

**HET GEHEUGENSPoor VAN HET KONIJN:
CONSOLIDATIE EN STABILITEIT**

HET GEHEUGENSPoor VAN HET KONIJN: CONSOLIDATIE EN STABILITEIT

PROEFSCHRIFT

ter verkrijging van de graad van doctor in de
geneeskunde
aan de Erasmus Universiteit Rotterdam
op gezag van de rector magnificus
Prof. Dr. M.W. van Hof
en volgens besluit van het college van dekanen.
De openbare verdediging zal plaatsvinden op
woensdag 21 december 1983 des namiddags
te 3.45 uur

door

Gerrit Jan Dogterom

geboren te Sommelsdijk

1983

Offsetdrukkerij Kanters B.V.,
Alblasserdam

PROMOTOR: PROF. DR. M.W. VAN HOF

CO-REFERENTEN: PROF. DR. J. BRUINVELS
PROF. DR. J.C. MOLENAAR

aan mijn ouders,
aan Paula

I N H O U D S O P G A V E

VOORWOORD	9
HOOFDSTUK 1 INLEIDING EN VRAAGSTELLINGEN	11
DEEL 1 PATROONDISCRIMINEREN	21
HOOFDSTUK 2 METHODIEK VAN HET PATROONDISCRIMINEREN	23
2.1. Inleiding	23
2.2. De patroondiscriminatieopstelling	26
2.3. De voortraining	28
2.4. De patroondiscriminatie training	29
HOOFDSTUK 3 CONSOLIDATIE VAN HET GEHEUGENSPoor	31
3.1. Inleiding	31
3.2. Resultaten	32
3.3. Conclusie	34
HOOFDSTUK 4 STABILITEIT VAN HET GEHEUGENSPoor	37
4.1. Inleiding	37
4.2. Resultaten	37
4.3. Conclusie	41
HOOFDSTUK 5 VERDWIJNT HET GEHEUGENSPoor TIJDENS EXTINCTIE?	43
5.1. Inleiding	43
5.2. Resultaten	43
5.3. Conclusie	48
HOOFDSTUK 6 HET GEHEUGENSPoor TIJDENS OMKERING VAN DE POSITIE VAN DE BELONING	49
6.1. Inleiding	49
6.2. Resultaten	50
6.3. Conclusie	57
HOOFDSTUK 7 HET KONIJN TIJDENS HYPOBARE HYPOXIE	59
7.1. Inleiding	59
7.2. De onderdruktank	61
7.3. Het verloop van een periode van hypobare hypoxie	63
HOOFDSTUK 8 KAN HYPOBARE HYPOXIE RETROGRADE AMNESIE VEROORZAKEN?	67
8.1. Inleiding	67
8.2. Resultaten	68
8.3. Conclusie	72

HOOFDSTUK 9	DE INVLOED VAN HYPOBARE HYPOXIE OP HET VERLOOP VAN EEN AANSLUITENDE ONBEKENDE DISCRIMINATIETRAINING	75
9.1.	Inleiding	75
9.2.	Resultaten	76
9.3.	Conclusie	79
HOOFDSTUK 10	DE INVLOED VAN HYPOBARE HYPOXIE OP HET VERLOOP VAN EEN AANSLUITENDE BEKENDE DISCRIMINATIETRAINING	81
10.1.	Inleiding	81
10.2.	Resultaten	83
10.3.	Invloed van de proefomstandigheden	89
10.4.	Conclusie	90
D E E L 2	S M A A K N E O F O B I E E N S M A A K A V E R S I E	93
HOOFDSTUK 11	INLEIDING EN VRAAGSTELLINGEN	95
HOOFDSTUK 12	DE REGISTRATIE VAN DE VOCHTOPNAME	99
12.1.	Registratie in de verblijfskooien	99
12.2.	De drinkopstelling	99
12.3.	Gevolgen van een beperkt drinkschema	100
12.4.	Vorbereiding op registratie van de vochttopname	101
HOOFDSTUK 13	INTRODUCTIE VAN EEN ONBEKENDE SMAAKSTIMULUS	105
13.1.	Inleiding	105
13.2.	Resultaten	106
13.3.	Conclusie	110
HOOFDSTUK 14	ANALYSE VAN DE SMAAKSTIMULUS	111
14.1.	Inleiding	111
14.2.	Resultaten	112
HOOFDSTUK 15	HET VERLOOP VAN DE VOCHTOPNAME GEDURENDE DE DRINKPERIODE	117
15.1.	Inleiding	117
15.2.	Resultaten	117
15.3.	Conclusie	121
HOOFDSTUK 16	HERKENNING VAN EEN SMAAKSTIMULUS	123
16.1.	VOLWASSEN KONIJNEN	123
16.1.1.	Inleiding	123
16.1.2.	Resultaten	123
16.2.	JONGE KONIJNEN	128
16.2.1.	Inleiding	128
16.2.2.	Resultaten	129
16.3.	CONCLUSIE	133

HOOFDSTUK 17	SMAAKAVERSIE	137
17.1.	Inleiding	137
17.2.	Resultaten	139
17.3.	Conclusie	144
HOOFDSTUK 18	KAN SMAAKAVERSIE WORDEN OPGEWEKT ZONDER NEOFOBIE?	147
HOOFDSTUK 19	INVLOED VAN HYPOBARE HYPOXIE OP HET VERDWIJNEN VAN NEOFOBIE	151
19.1.	Inleiding	151
19.2.	Hypobare hypoxie na een drinkperiode van 40 minuten	153
19.3.	Veranderingen na verkorting van de duur van de drinkperiode	156
19.4.	Neofobie en gewenning bij een drinktijd van 20 minuten	160
19.5.	Hypobare hypoxie na een drinkperiode van 20 minuten	163
19.6.	Conclusie	166
HOOFDSTUK 20	DE INVLOED VAN HYPOBARE HYPOXIE OP HET VERLOOP VAN DE VOCHTOPNAME TIJDENS EEN AANSLUITENDE DRINKPERIODE	167
20.1.	Inleiding	167
20.2.	Invloed van de proefomstandigheden	167
20.3.	Hypobare hypoxie voorafgaande aan de drinkperiode	170
20.4.	Conclusie	173
HOOFDSTUK 21	ALGEMENE DISCUSSIE	175
SAMENVATTING		185
SUMMARY		189
LITERATUUR		193
POSTSCRIPTUM		203
CURRICULUM VITAE		207

V O O R W O O R D

Voor het adequaat functioneren van het centrale zenuwstelsel is een voldoende aanbod van zuurstof noodzakelijk. Indien de zuurstoftoevoer gedurende enige tijd wordt onderbroken, kunnen stoornissen als verlammingen of mentale retardatie ontstaan. Gezien de ingrijpende gevolgen van een tekort aan zuurstof in de hersenen is het niet verwonderlijk, dat de farmaceutische industrie in toenemende mate haar inspanningen richt op de ontwikkeling van farmaca die de hersenen althans tijdelijk tegen deze gevolgen kunnen beschermen (2, 4, 29, 52, 119, 144, 145).

Het onderzoek op dit terrein wordt echter bemoeilijkt door een gebrek aan diermodellen die er zich toe lenen de invloed van hypoxie op het zenuwstelsel kwantitatief te benaderen (65). In een groot aantal dierexperimenten staat de mogelijke invloed van zuurstoftekort op leerprocessen, dan wel op de uitvoering van aangeleerde taken, centraal. In dit kader is op de afdeling Fysiologie I van de Erasmus Universiteit Rotterdam een onderzoekprogramma opgesteld voor de ontwikkeling van diermodellen waarmee de gevolgen van cerebrale hypoxie kunnen worden bestudeerd. Zoals hierna zal blijken was het onderzoek naar consolidatie en stabiliteit van het geheugenspoor van het konijn een voor de hand liggende stap in het geheel van dit onderzoekprogramma.

INLEIDING EN VRAAGSTELLINGEN

Konijnen bezitten het vermogen om langs visuele weg patronen te onderscheiden (62). In de afgelopen jaren is het bestuderen hiervan op de afdeling Fysiologie I uitgegroeid tot een onderzoekrichting, waarin in eerste instantie werd nagegaan wat de eigenschappen waren van de patronen die konden worden onderscheiden (63). Later werd het al of niet bestaan van een relatie tussen deze gedragsfysiologische bevindingen en electrofysiologische eigenschappen van zenuwcellen in het visuele systeem onderzocht (64, 65, 66). Daarnaast werd met behulp van ablatietechnieken de betekenis van verschillende structuren in het visuele systeem bestudeerd (67, 129). Deze ablatietechnieken werden eveneens gebruikt om de gevolgen van laesies in het visuele systeem van volwassen konijnen te vergelijken met die van pasgeboren dieren (130).

Een aspect van het patroondiscriminatie-gedrag van het konijn dat tot nog toe weinig aandacht heeft gekregen, is de consolidatie en stabiliteit van het zogenaamde geheugenspoor. Onder dit laatste verstaat men het geheel van duurzame veranderingen in neuronale interactie dat ten grondslag ligt aan een bepaald verworven gedragspatroon.

In zijn recente oratie getiteld: "Het geheugenspoor: een neurobiologisch doolhof" (92) geeft Lopes da Silva een historisch overzicht van de ontwikkeling van het denken over leren en geheugen. Onder invloed van Aristoteles (384 - 322 v. Chr.) werden deze eigenschappen toegeschreven aan het hart als plaats waar lichaamswarmte werd gevormd met de hersenen als afkoelingsorgaan. Sinds Galenus (ca. 130 - 210 na Chr.) kregen de hersenen de centrale rol van bron van de "spiritus animalis", welke zich via holle buisjes door het lichaam verplaatste en welke gewenste opdrachten zoals spierbewegingen tot stand bracht. Deze gedachte is tot in de tijd van Descartes basis gebleven van theorieën over de hersenwerking en het geheugen.

Descartes veronderstelde dat de "spiritus animalis" met het bloed vanuit het hart naar de hersenen ging. In de pijnappelklier, waar zijns inziens de slagaderen eindigden, kon een gedeelte van de "spiritus animalis" via zeer kleine gaatjes de hersenholten bereiken om zich van daaruit door de zenuwen te verplaatsen. Het geheugen ontwikkelde zich volgens hem door dat deel van de "spiritus animalis" dat op basis van geestelijke processen werd gevormd. Deze zeer vluchtige substantie zou in staat zijn bepaalde poriën te openen in de wand van de hersenkamers, zodanig dat er duurzame, mechanische veranderingen ontstonden.

Vertaald naar de huidige denkbeelden kan dit model als volgt worden voorgesteld: de "spiritus animalis" is het geheel van actiepotentialen dat langs de zenuwvezels verloopt en de mechanische veranderingen in de hersenen zijn te vergelijken met de duurzame veranderingen in neuronale interactie.

Met betrekking tot het geheugenspoor zijn er twee belangrijke aspecten te onderscheiden:

- a. Waar is het geheugenspoor gelocaliseerd?
- b. Welke zijn de duurzame veranderingen in de neuronale elementen, zoals de synaps, waardoor het verworven gedragspatroon wordt geconsolideerd?

Aangaande de localisatie van het geheugenspoor zijn de experimenten van R. Thompson van belang. Bij de rat onderzocht hij het retentievermogen voor verworven gedrag in een aantal experimentele omstandigheden. In deze verschillende leersituaties, waartoe ook het patroondiscrimineren behoorde, vergeleek hij de prestatie voor- en na het aanbrengen van een hersenlaesie. Zijn conclusie was, dat een verzameling hersenstructuren een rol speelde in de geheugenfunctie van de rat. Deze structuren hangen nauw samen met de reticulaire formatie in de hersenstam, de basale ganglia en het limbische systeem (133, 134).

Bovendien bleken een negental gebieden in de hersenen een functie te hebben in het aanleren van nieuwe discriminatietaken. Eén van deze taken was het leren onderscheid te maken tussen een wit- en een zwart patroon.

De structuren die zulke leerprocessen konden beïnvloeden zijn de reticululaire formatie in de pons, het mediane gebied van de raphe, de nucleus interpeduncularis en het centraal tegmentum, de substantia nigra, de nucleus ruber, de nucleus parafascicularis, de laterale thalamuskern, de ventrolaterale thalamuskern en de globus pallidus. Een bilaterale laesie in één van deze gebieden gaf een significante vermindering van het leer- vermogen te zien (136, 137). Met andere woorden: de genoemde structuren spelen een rol in de consolidatie van het geheugenspoor, dat ten grondslag ligt aan bepaalde verworven gedragspatronen.

In andere experimenten met laesies in de hersenen werd aangetoond, dat de hippocampus intact diende te zijn voor het gedurende enige tijd vasthouden van nieuwe informatie. Na een beschadiging van deze structuur bleken ratten niet in staat te zijn ervaringen uit een doolhoftraining toe te passen tijdens een volgende training in dezelfde doolhof (109, 135). Grote bilaterale laesies van de hippocampus kunnen ook bij de mens het vermogen aantasten om informatie duurzaam op te slaan (99). De hippocampus heeft vele neuro-anatomische verbindingen met andere gebieden in de hersenen. Het is aannemelijk dat in deze structuur verschillende soorten signalen gecombineerd en gedurende korte tijd vastgehouden kunnen worden (90). Dit zou de eerder genoemde rol kunnen verklaren bij de consolidatie van het geheugenspoor.

Wat betreft de duurzame veranderingen in neuronale interactie, die de basis zijn voor de consolidatie van het geheugenspoor, bestaan vele hypothesen. Hier zij volstaan met het geven van één, goed gefundeerd voorbeeld. Kandel (76) heeft de eigenschappen van het eenvoudige zenuwnetwerk van de zeeslak *Aplysia Californica* onderzocht en daarbij het neuronale mechanisme van één van de eenvoudigste vormen van leren, de habituatie, kunnen ontrafelen. Dit netwerk bestaat uit een aantal mechanoreceptoren, welke via een monosynaptische schakeling in contact staan met motoneuronen. Na stimulatie van de mechanoreceptoren ontstaat er een elektrische impuls in het sensibele neuron. De overdracht van deze impuls op het motoneuron vindt plaats in een hiertoe gespecialiseerde eenheid, de synaps.

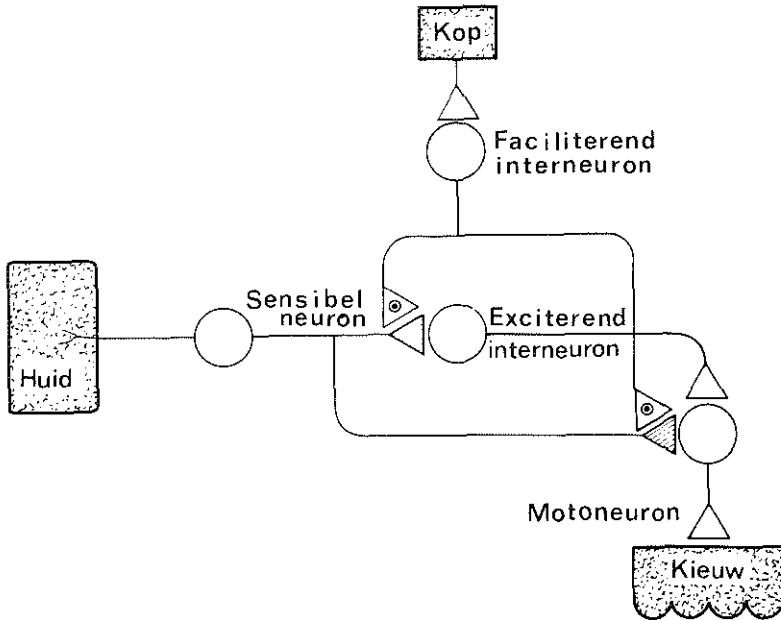


Fig. 1: Zenuwnetwerk van de zeeslak Aplysia, waarin de intrekreflex van het kieuwsysteem plaatsvindt. Herhaalde stimulatie doet de afgifte van neurotransmitter uit het presynaptische einde (voorgesteld door een driehoek) gedurende lange tijd verminderen. Een impuls van het faciliterend interneuron herstelt in korte tijd de impulsoverdracht (ontleend aan Kandel, 1981).

Als gevolg van de elektrische activiteit in het sensibele neuron komt er een chemische substantie, de neurotransmitter, vrij in de synapsspleet tussen het sensibele neuron en het motoneuron. Deze neurotransmitter zorgt voor de elektrische stimulatie van het motoneuron, waardoor de impuls wordt overgedragen. Dit zal uiteindelijk tot spierverkorting en intrekking van het kieuwsysteem leiden. Door herhaalde stimulatie neemt de hoeveelheid afgegeven neurotransmitter snel af tot het niveau waarop in het motoneuron geen activiteit meer optreedt. Deze habituatie van de reactie in een reflexboog blijkt dus op het niveau van de synaps plaats te vinden. De afname van de gevoeligheid van de intrekreflex voor uitwendige prikkels kan tot enige weken aantoonbaar zijn.

De afgifte van neurotransmitter in het presynaptische uiteinde wordt gereguleerd door de instroming van Ca^{++} . Tijdens de habituatie blijkt een verandering op te treden in de doorlaatbaarheid van de celmembraan voor dit ion. Stimulatie van de kop van de zeeslak geeft een actiepotentiaal in het faciliterend interneuron (Fig. 1). Hierdoor herstelt de doorlaatbaarheid van de celmembraan voor Ca^{++} . Stimulatie van de mechanoreceptoren heeft dan weer een hoge afgifte van neurotransmitter tot gevolg, ondanks de eerder opgetreden uitdoving. Het kieuwsysteem wordt nu weer onmiddellijk ingetrokken (76).

Uit dit zeer eenvoudige diermodel blijkt dat processen als af- en toename van de gevoeligheid van een reflexboog afhankelijk zijn van de afgifte van neurotransmitter in de synaps. Deze afgifte is afhankelijk van biochemische processen in het presynaptische uiteinde en gaat gepaard met veranderingen in de doorlaatbaarheid van de celmembraan voor Ca^{++} . Vergelijkbare gegevens zijn bekend uit het onderzoek van synaptische activiteit in plakjes hippocampusweefsel (91). Het lijkt dus aannemelijk dat consolidatie van een geheugenspoor kan optreden door veranderingen in de transmissie-eigenschappen van de synaps.

Vanzelfsprekend is het voorgaande slechts bedoeld als een voorbeeld van veranderde synapstransmissie tijdens een leerproces. Het is zeer wel mogelijk dat vele andere mechanismen bestaan. Momenteel is voor de lange-termijn stabiliteit, die bijvoorbeeld bij de mens vele jaren kan bedragen, nog geen bevredigende verklaring gevonden. Als mogelijkheden noemt Kandel (76) naast veranderingen in bestaande synapsen ook uitbreiding of nieuwvorming van deze contactplaatsen.

Het onderzoek naar consolidatie en stabiliteit van het geheugenspoor van het konijn werd niet alleen ingegeven door een zuiver academische belangstelling. Zoals reeds in het voorwoord werd vermeld, bestaat er momenteel een toenemende interesse voor diermodellen betreffende cerebrale hypoxie. Met dergelijke modellen kan een mogelijke farmacologische bescherming van neuronale structuren tegen de gevolgen van cerebrale hypoxie worden gekwantificeerd. De vraag rees in hoeverre de ter beschikking staande patroondiscriminatie-methodiek van het konijn voor dit

type onderzoek geschikt te maken was, opdat ons laboratorium een bijdrage kon leveren op dit gebied.

De verschillende diermodellen die in de literatuur zijn te vinden en die betrekking hebben op de invloed van cerebrale hypoxie op consolidatie en stabiliteit van het geheugenspoor, zijn in drie groepen in te delen.

A. Retrograde amnesie

Veelal wordt aangenomen dat het permanente geheugen zich vormt na een periode van dynamische opslag. Tijdens deze zogenaamde labiele fase is het mogelijk door bepaalde manipulaties, zoals een kunstmatig opgewekt epileptisch insult, cerebrale hypoxie en andere, de consolidatie van het geheugenspoor te voorkomen (50, 76, 86, 87, 92).

Hayes (60) bestudeerde de invloed van hypoxie op het leervermogen van ratten. Per dag werden de dieren éénmaal in een zogenaamde "T-maze" geplaatst, waarin ze op één vaste plaats voedsel konden verkrijgen. Nadat een al dan niet juiste keuze was gemaakt, werd een aantal dieren enige tijd hypoxisch gemaakt. Deze ratten leerden significant minder snel hun weg te vinden in de doolhof. Verschillende voorbeelden zijn te geven van onderzoeken, waarin een retrograde amnesie ten gevolge van hypoxie werd gevonden (119, 120, 132). Echter, in een uitvoerig literatuuroverzicht liet Flohr (41) zien dat er ook vele negatieve resultaten zijn te vinden. Onafhankelijk van het optreden van retrograde amnesie hebben al deze experimenten gemeen dat de hypoxie werd opgewekt, nadat een bepaalde gedragsverandering had plaatsgevonden.

B. Consolidatie of uitlezing van het geheugenspoor tijdens hypoxie

Er zijn verschillende rapportages bekend over het functioneren van het centrale zenuwstelsel van de mens onder hypoxische omstandigheden. Meestal betroffen dit onderzoeken in het kader van de ruimtevaart (nagebootst in decompressiekamers) of van het beklimmen van zeer hoge bergen. Het bleek dat vanaf een hoogte van 5400 m een steeds sterkere belemmering optrad in het uitvoeren van gecompliceerde opdrachten. Dit kwam tot uiting in een lichte vergeetachtigheid, afnemende reactiesnelheid in test-situaties en toenemende passiviteit. Vooraf vastgestelde programma's

konden tot op grote hoogte (boven 7900 m) goed worden uitgevoerd ("uitlezen van geheugensporen") maar op onverwachte veranderingen werd inadequaat gereageerd (35, 61).

In het dierexperimenteel onderzoek zijn slechts weinig gegevens bekend over het leervermogen tijdens hypoxie. Ledwith (83) onderzocht het vermogen van ratten elektrische schokken te leren vermijden, terwijl de dieren aan hypoxie werden blootgesteld. Hij vond dat, wanneer de partiële druk van zuurstof van 20% tot 9% werd verlaagd, er een duidelijke belemmering optrad van dit type leerproces.

C. Consolidatie of uitlezing van het geheugenspoor na hypoxie

1. Diepe hypoxie heeft geen invloed op een gestabiliseerd geheugenspoor

Klinische observaties bij de mens maken duidelijk dat na een periode van diepe cerebrale hypoxie irreversibele beschadigingen optreden. De geheugenfunctie voor gecompliceerde opdrachten lijkt in deze gevallen vaak verminderd. In dierexperimenten konden deze observaties echter niet worden bevestigd. Van Harreveld (58) wekte bij proefdieren cerebrale asfyxie op door de intracraniële druk enige tijd boven de systolische bloeddruk te brengen, gedurende welke periode kunstmatige ademhaling werd toegepast. Na een herstelperiode bleek een voor deze behandeling verworven gedragspatroon even goed uitgevoerd te worden als onder controle-omstandigheden. Dezelfde methode van cerebrale asfyxie bleek ook geen invloed te hebben op het retentievermogen van konijnen voor een patroondiscriminatietaak (59). Het blijft echter zeer wel mogelijk dat hypoxie wel invloed heeft op de uitvoering van meer gecompliceerde gedragspatronen.

2. Afwijkingen in consolidatie van het geheugenspoor enige tijd na hypoxie

Zowel van de mens als van proefdieren zijn gegevens bekend over het vermogen onbekende taken te leren geruime tijd nadat asfyxie was opgetreden. Meestal was dat rond de geboorte en werd het leervermogen op volwassen leeftijd getest. Rhesus-ape, die een dergelijke episode meemaakten, bleken op latere leeftijd significant slechter te kunnen leren waar zij in een trainopstelling voedsel konden verkrijgen

(151, 152). Evenzo waren cavia's na neonatale asfyxie op volwassen leeftijd tijdens alle stadia van het leren van een route in een doolhof de mindere van onbehandelde dieren.

Bryant en Thompson (23) benaderden het probleem van de gevolgen van hypoxie door in volwassen ratten een leerproces te laten plaatsvinden, achtenveertig uur na een periode van hypoxie. Zij gebruikten in hun experiment de decompressiemethode. Een 10-minuten durend verblijf in lucht met een zuurstofgehalte dat nog maar net overleving toestond, bleek geen invloed te hebben op het aanleren van een patroondiscriminatie.

3. Consolidatie of uitlezing van het geheugenspoor direct na hypoxie

Uit observaties bleek dat konijnen, die enige tijd in een onderdruk-tank aan hypoxie werden blootgesteld, gedurende enkele minuten nadien nog verschijnselen vertoonden als tremoren en afwijkende houdingsreflexen. Het was echter moeilijk te zeggen na hoeveel tijd een dier weer geheel was hersteld. In de literatuur werden nauwelijks gegevens aangetroffen omtrent de periode direct na hypoxie. Het is mogelijk om na te gaan of consolidatie van een geheugenspoor na afloop van hypoxie plaatsvindt. Bovendien kan gemeten worden hoe lang het duurt voordat een geconsolideerd geheugenspoor wordt uitgelezen. Een dergelijke aanpak lijkt een goede basis te zijn om de herstelperiode na hypoxie te kwantificeren.

Aangaande het patroondiscriminatievermogen van konijnen liggen de volgende vraagstellingen aan dit proefschrift ten grondslag:

- I. Hoe verloopt de consolidatie van het geheugenspoor voor patroondiscriminatietaken onder normale omstandigheden en hoe is de stabiliteit van een éénmaal gevormd geheugenspoor? (Hoofdstuk 3 t/m 6).
- II. Kan hypobare hypoxie een retrograde amnesie veroorzaken? (Hoofdstuk 8).
- III. Hoe verloopt de consolidatie van het geheugenspoor na afloop van hypobare hypoxie? (Hoofdstuk 9).

IV. Welke invloed heeft hypobare hypoxie op het uitlezen van een reeds bestaand geheugenspoor? (Hoofdstuk 10).

In het tweede deel van het proefschrift zal de consolidatie en stabiliteit van een ander type leerproces, namelijk van smaakneofobie en smaakaversie, worden besproken. De mogelijke invloed van hypobare hypoxie op dit leerproces zal ook aan de orde komen. De vraagstellingen en bespreking van de experimenten uit beide delen zullen grotendeels dezelfde opbouw hebben. Voor de inleiding betreffende het tweede deel zij hier verwezen naar hoofdstuk 11.

DEEL 1

PATROONDISCRIMINEREN

METHODIEK VAN HET PATROONDISCRIMINEREN

2.1. Inleiding

Zoals in hoofdstuk 1 werd vermeld, kunnen konijnen onderscheid leren maken tussen verschillende patronen. Tijdens dit soort van experimenten fungeert voedsel als beloning voor het maken van een juiste keuze uit twee tegelijkertijd aangeboden patronen. In het onderzoek van de afgelopen jaren werden op de afdeling Fysiologie I alleen de konijnerassen "Hollandertje" en "Chinchilla" gebruikt. De experimenten die in dit proefschrift zijn beschreven, werden ook tot deze twee rassen beperkt.

Een licht/donker discriminatie (Fig. 2), blijkt op subcorticaal niveau te kunnen plaatsvinden. Voor patroondiscriminatietaken als verticale-ten opzichte van horizontale zwart-wit strepen (Fig. 3), dient de visuele cortex intact te zijn (67, 143).

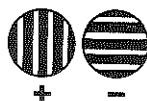
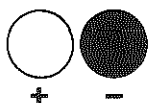


Fig. 2: Voorbeeld van een helderheidsdiscriminatie

Fig. 3: Voorbeeld van een patroondiscriminatie

Het beloonde patroon, in Fig. 3 en Fig. 4 aangeduid met +, werd in willekeurige volgorde links of rechts aangeboden.

In een recente studie (68) werd nagegaan welke invloed het beloonde-en het niet-beloonde patroon hebben op het maken van de juiste keuze.

Konijnen leerden in dit experiment onderscheid te maken tussen de patrooncombinatie verticaal/horizontaal (Fig. 4) tot het niveau van 90% of meer juiste keuzen per dag. Vervolgens werd random het positieve of het negatieve patroon vervangen door een neutraal patroon van gelijke hoeveelheid contrast en luminantie (Fig. 5.1 en 5.2).



Fig. 4: Patroondiscriminatie waarbij konijnen onderscheid leerden maken tussen verticaal- en horizontaal gestreepte patronen. Het beloonde patroon werd in willekeurige volgorde links of rechts aangeboden.

Vervanging van het beloonde patroon (Fig. 4) door een betekenisloos patroon (Fig. 5.1) bleek geen invloed te hebben op het percentage juiste keuzen: dit bleef boven het niveau van 90%. Daarentegen deed vervanging van het niet-beloonde patroon (Fig. 5.2) het scoringspercentage zakken tot tussen de 60% en 70%. Met andere woorden: de juiste keuze is voornamelijk gebaseerd op de positie van het negatieve patroon.

De taak waarbij een konijn twee identieke patronen te zien krijgt, is aanzienlijk moeilijker te leren. Een voorbeeld hiervan is weergegeven in Fig. 6. Bij de combinatie verticaal/verticaal wordt het rechter- en bij de combinatie horizontaal/horizontaal het linker patroon beloond. Met patroondiscriminatie taken van een dergelijk type is tot nu toe bij het konijn weinig ervaring opgedaan.



Fig. 5.1



Fig. 5.2

Fig. 5: Nadat het criterium van de training (Fig. 4) was bereikt, werd random het beloonde patroon (Fig. 5.1) of het niet-beloonde patroon (Fig. 5.2) vervangen door een neutraal patroon van gelijke hoeveelheid contrast en luminantie.

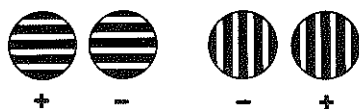


Fig. 6: Voorbeeld van een positiediscriminatie; + representeert de positie van de beloning.

Het voorgaande betekent dat er bij het konijn, ten gevolge van het herhaald aanbieden van patronen, een leerproces optreedt, waardoor het organisme zijn reactie kan aanpassen aan de omstandigheden (80, 138). In het geval van de verticaal/horizontaal discriminatie (Fig. 4) zou men, antropomorf redenerend kunnen zeggen: "Vermijdt horizontale strepen", want deze hebben de betekenis "geen voedsel".

2.2. De patroondiscriminatieopstelling

Van Hof (62) heeft in 1966 het principe van de trainopstelling ontwikkeld voor het onderscheiden van patronen door konijnen. Deze patroondiscriminatieopstelling is later volledig geautomatiseerd (94).

De trainopstelling (Fig. 7) bestaat uit een metalen kist (46 x 46 x 35 cm) die van boven geopend kan worden. In de voorwand bevinden zich twee rechthoekige openingen (12 x 17 cm), van buiten afgesloten door twee rechthoekige luiken (A). Deze luiken scharnieren aan de bovenzijde en hebben een rond venster in het midden (diam. 10 cm). De vensteropening in de luiken is afgesloten door een glasplaat bedekt met Kodatrace folie (B).

Op een afstand van 100 cm voor de metalen kist staat een diaprojector zo opgesteld dat op het linker venster het ene patroon en op het rechter venster het andere wordt geprojecteerd. Zo kunnen tegelijk twee patronen van verschillende vorm en oriëntatie zichtbaar worden gemaakt aan een konijn, dat zich in de metalen bevindt. In dit proefschrift is gebruik gemaakt van zwart-wit gestreepte patrooncombinaties met een bandbreedte van 1.4 cm en wisselende oriëntatie. Wanneer het konijn het positieve of beloonde patroon kiest door het betreffende luik open te duwen, dan wordt hierdoor een voedselkorrel verkregen. Deze korrels bevinden zich op een draaibare schijf achter de luiken (F).

Een presentatie begint wanneer de sluiters van de diaprojector worden geopend en zo één der patronen op het linker- en de andere op het rechter luik wordt geprojecteerd. Enkele seconden later wordt via een electropneumatisch signaal plunjer C ontgrendeld. Al naar gelang de positie van het beloonde patroon zal tevens ofwel plunjer D ofwel plunjer E het betreffende luik ontgrendelen (Fig. 7). Nu kan het konijn het luik waarop het beloonde patroon is geprojecteerd, openen en de erachter liggende voedselkorrel pakken. Vijf seconden hierna sluit plunjer C beide luiken en verdwijnt ook het diabeeld. Indien het konijn het vergrendelde luik probeert te openen, blokkeert plunjer C beide luiken en wordt het projectiebeeld uitgeschakeld. Het konijn heeft dus niet de mogelijkheid een onjuiste keuze te herstellen.

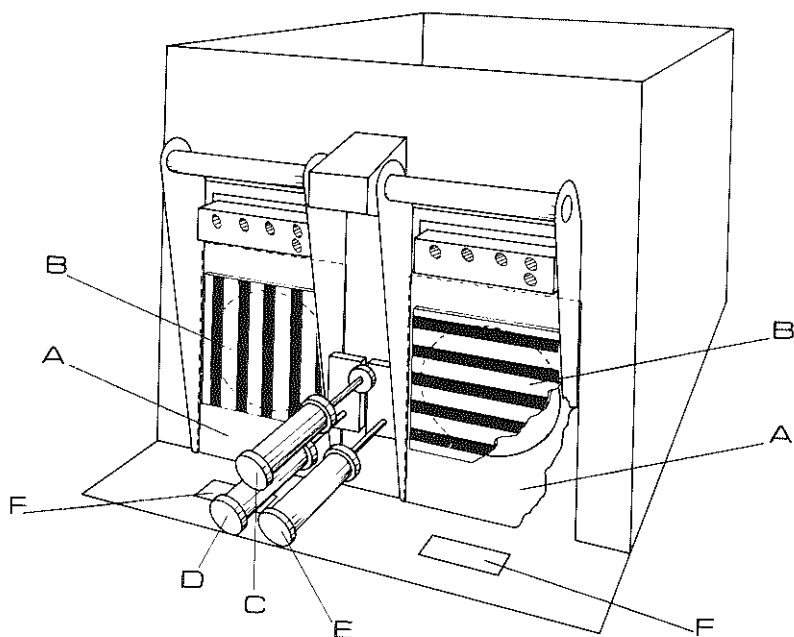


Fig. 7: Vooraanzicht van de bij het konijn gebruikte patroon-discriminatieopstelling.
 A = scharnierende luiken waarop de patronen (B) worden geprojecteerd.
 C = plunjer waarmee de twee luiken gelijktijdig worden vergrendeld.
 D en E = plunjers waarmee slechts één luik wordt vergrendeld.
 F = gleuf in een draaibare schijf, waarin een voedselkorrel ligt.
 Zie ook in de tekst.

Wanneer een presentatie van de patrooncombinatie is afgelopen, draaien de voedselschijven één positie verder en begint na 3 seconden een nieuwe presentatie. De minimale tijd die nodig is voor één volledige presentatie, is ongeveer 9 seconden. Per dag krijgt het konijn al naar gelang de opzet van de test 50 tot 100 presentaties te verwerken binnen 40 minuten. De volgorde waarin de patronen worden aangeboden, is willekeurig (49) en wordt door de computer bepaald. Deze registreert tevens het

aantal malen dat het beloonde patroon wordt gekozen en de totale tijd waarin de training wordt voltooid.

2.3. De voortraining

Voordat het konijn zover is dat het in de geautomatiseerde trainopstelling getest kan worden, ondergaat het een voortraining of "shaping". Hiertoe wordt eerst gedurende 2 dagen voedsel onthouden, waarna het konijn in een vergelijkbare ruimte als de testruimte de gelegenheid krijgt ongeveer 40 gram voedsel te nuttigen, welke zich achter twee luiken bevindt buiten de kist.

Op de eerste dag van de voortraining zijn de luiken open, daarna zijn ze gesloten, maar niet vergrendeld. Zo leert het konijn dat het voedsel kan bemachtigen door met de snuit één der luiken te openen. De tijd waarbinnen het konijn op deze manier kan eten, is ten hoogste 2 uur. Is het voedsel binnen 20 minuten op, dan kan de volgende fase beginnen.

Deze fase vindt plaats in de eigenlijke patroondiscriminatieopstelling. Op de vensters van beide luiken verschijnt wit licht; deze luiken worden vervolgens na 3 seconden ontgrendeld. Nu heeft het konijn gedurende 5 seconden de tijd achter één der luiken een voedselkorrel te pakken; na deze tijd worden de luiken vergrendeld en verdwijnt het licht. Indien het konijn binnen 40 minuten 50 van deze presentaties kan verwerken, begint de laatste fase van de voortraining.

In deze fase wordt weer wit licht op beide luiken geprojecteerd, maar nu is, in willekeurige volgorde, één van de luiken vergrendeld. Tracht het konijn dit te openen, dan wordt de presentatie direct afgebroken. Hierdoor leert het konijn dat één van de luiken is afgesloten en tevens wat hier het gevolg van is. Indien het konijn in deze fase 100 presentaties binnen 40 minuten kan verwerken, is de voortraining afgesloten. Meestal zijn voor de gehele voortraining 7 tot 10 dagen nodig en kan daarna met de eigenlijke training worden begonnen.

Om er voor te zorgen dat een konijn door middel van het patroondiscrimineren gedurende de training bezig bleef voedsel te bemachtigen, werd het gedurende het gehele experiment op 90% van het basislichaamsgewicht

gehouden. Dit werd bereikt door na de discriminatieserie dagelijks een aangepaste hoeveelheid voedselkorrels te geven. Dit voedsel werd meestal direct opgegeten. In de verblijfskooien was altijd water ad libitum aanwezig. Zo werd bereikt dat de konijnen telkens bij het begin van de training ongeveer 20 uur niets hadden gegeten.

2.4. De patroondiscriminatie training

Het patroondiscrimineren verloopt volgens een vast trainprotocol. De eerste stap na de voortraining is altijd het aanleren van het onderscheid tussen licht en donker, waarbij het helder verlichte luik het beloonde is (Fig. 2). Het verdere verloop van de verschillende trainprotocollen zal in de betreffende hoofdstukken worden weergegeven.

Per traindag kregen de konijnen op dezelfde tijd binnen 40 minuten een vooraf vastgesteld aantal presentaties te verwerken van een bepaalde patrooncombinatie. In de hier besproken experimenten waren dat per dag 50 of 100 presentaties. Tijdens de training werd de volgende keuzemogelijkheid pas aangeboden, indien in de voorgaande presentatie een beslissing, hetzij juist of onjuist, was genomen. Wanneer een konijn 90% of meer juiste keuzen maakte binnen 40 minuten, werd het verondersteld onderscheid tussen twee patronen te kunnen maken (62). Pas dan werd overgegaan naar de volgende fase in het trainprotocol. Per konijn werd vastgelegd hoeveel dagen het kostte om het criterium te bereiken en tevens hoeveel presentaties daarvoor nodig waren. Bovendien werd het totale aantal onjuiste keuzen berekend. De dag waarop het criterium werd bereikt, telde mee in de berekening van de totaalscore per patrooncombinatie.

CONSOLIDATIE VAN HET GEHEUGENSPOOR

3.1. Inleiding

In het navolgende experiment leerden vijfendertig konijnen een tweetal patrooncombinaties te onderscheiden. Deze combinaties waren licht/donker en verticaal/horizontaal. Nagegaan werd of er overeenkomsten waren tussen beide leerprocessen. Het trainprotocol A is weergegeven in Fig. 8; de training verliep zoals op pag. 27 t/m 28 werd beschreven. Een enkele maal kwam het voor dat een konijn op de eerste dag van een nieuwe stap in het protocol niet alle 100 presentaties binnen 40 minuten kon verwerken. De programmering van de automatische trainopstelling (94) was zo, dat na 40 minuten geen nieuwe presentaties meer werden aangeboden. Daar er mogelijk toch al sprake was van een begin van het leerproces, werden deze onvolledige trindagen meegerekend in het totaalresultaat.

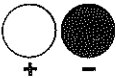

FASE	PATROONCOMBINATIE	AANTAL PRESENTATIES PER DAG	CRITERIUM IN % JUISTE KEUZEN
1.		100	1 dag \geq 90%
2.		100	1 dag \geq 90%

Fig. 8: Trainprotocol A, + representeert het beloonde patroon. Dit werd in willekeurige volgorde op het linker- en het rechter luik geprojecteerd.

3.2. Resultaten

De trainprocedure werd voortgezet tot per patrooncombinatie het criterium van 90% of meer juiste keuzen werd bereikt. De dag waarop dit criterium werd bereikt, werd beschouwd als het einde van de consolidatie van het geheugenspoor. Als maat voor de consolidatieperiode werden per konijn drie waarden berekend: het aantal dagen, het aantal presentaties en het aantal onjuiste keuzen (respectievelijk a, b en c in Tabel 1). Twee representatieve voorbeelden van de training volgens protocol A zijn weergegeven in Fig. 9 (konijn 433 en 434).

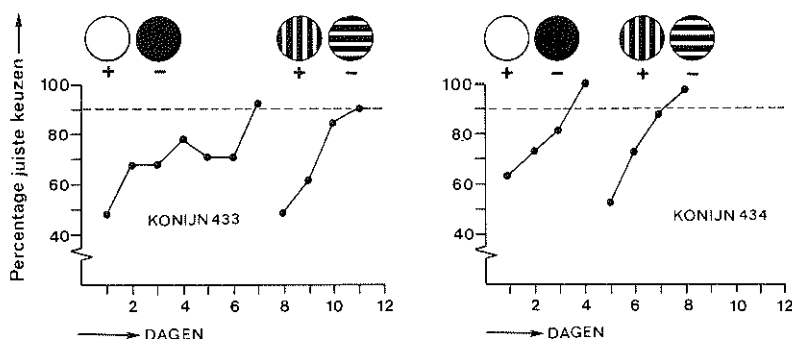
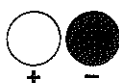


Fig. 9: Twee traincurves van konijnen die volgens protocol A werden getraind.

De licht/donker discriminatie werd in gemiddeld 346 presentaties voltoerd, terwijl daarbij per konijn gemiddeld 82 onjuiste keuzen werden gemaakt. In fase 2, de verticaal/horizontaal discriminatie, waren vervolgens 350 presentaties nodig om het criterium te bereiken. Het aantal onjuiste keuzen tijdens deze discriminatie bedroeg gemiddeld 91. Analyse met de rangtekentoets liet voor het aantal onjuiste keuzen geen significant verschil zien tussen de beide leerprocessen.

Per patrooncombinatie bestond er een sterke correlatie tussen het aantal presentaties en het aantal onjuiste keuzen (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 35$, fase 1: $R = 890.75, \alpha < 0.001$; fase 2: $R = 1532.5, \alpha < 0.001$).

FASE 1.



FASE 2.



NO:	a	b	c	a	b	c
432	5	500	108	6	600	186
433	7	700	203	4	400	114
434	4	400	82	4	400	89
436	3	300	52	4	400	131
437	3	300	39	3	300	90
438	2	200	28	3	300	81
439	5	500	130	3	300	99
440	3	300	64	3	300	80
443	3	300	84	3	300	82
444	3	264	69	5	434	64
445	2	200	22	3	300	66
446	2	200	18	2	200	50
448	7	700	185	5	500	96
449	2	200	29	4	400	99
462	2	200	24	2	200	57
463	3	300	79	4	400	97
470	1	100	5	2	200	24
471	2	200	42	7	700	227
472	2	200	13	3	300	95
473	3	300	66	3	300	55
475	2	200	22	5	500	94
477	4	354	70	4	313	23
479	4	400	53	3	300	101
480	6	600	219	6	600	167
481	3	300	60	2	200	54
482	4	400	70	3	300	87
483	5	500	155	3	300	84
484	3	300	87	4	400	74
485	3	300	81	2	200	49
486	3	300	91	2	200	42
487	3	300	60	3	300	87
488	2	200	61	2	200	52
489	9	900	316	3	300	71
490	4	400	114	5	500	190
491	3	300	59	4	400	108
\bar{x}	3.5	346	82	3.5	350	91

Tabel 1: Patroondiscrimineren van vijftendertig konijnen die volgens protocol A werden getraind.

a = aantal dagen tot en met criterium

b = aantal presentaties tot en met criterium

c = aantal onjuiste keuzen tot en met criterium

De correlatiecoëfficiënt r_s voor de licht/donker discriminatie was 0.88 en voor de verticaal/horizontaal discriminatie 0.79. Gezien de sterke correlatie kunnen beide getallen gebruikt worden voor het volgen van het leerproces; er is geen voorkeur voor één van beide. Statistische berekeningen mogen op het aantal onjuiste keuzen worden toegepast, daar er weinig gelijke waarden werden geregistreerd.

Alle vijftig traincurves verliepen op een vergelijkbare wijze (Fig. 9). Dit betekent dat naarmate er meer presentaties werden gebruikt, het percentage juiste keuzen op achtereenvolgende dagen geleidelijk hoger werd. Eerst een aantal dagen met een percentage rond kansniveau gevolgd door een snelle stijging tot het criterium, kwam eigenlijk nauwelijks voor. Dit duidt op een geleidelijk aanleren van het onderscheid tussen de op de luiken geprojecteerde beelden (Fig. 7, pag. 27). De consolidatie van het geheugenspoor verliep waarschijnlijk parallel hieraan (80, 138).

Tenslotte werd nagegaan of er een verband bestond tussen beide leerprocessen. Hiertoe werden de aantallen onjuiste keuzen van de licht/donker discriminatie en van de verticaal/horizontaal discriminatie geanalyseerd met de rangcorrelatietoets van Spearman. Er bleek geen significant verband te bestaan ($n = 35$, $R = 5699.5$, $\alpha > 0.1$).

3.3. Conclusie

Het aanleren van een helderheidsdiscriminatie verloopt op dezelfde wijze als het aanleren van een patroondiscriminatie. In beide leerprocessen bestaat er een sterk verband tussen het aantal presentaties en het aantal onjuiste keuzen. Gezien het verloop van de twee representatieve traincurves in Fig. 9 betekent dit, dat de consolidatie van het geheugenspoor voor een visuele discriminatietask geleidelijk verloopt. Bij een training volgens protocol A is de consolidatieperiode na gemiddeld $3\frac{1}{2}$ dag voltooid.

Het gemiddelde van de aantallen onjuiste keuzen in de licht/donker discriminatie is ongeveer gelijk aan dat in de verticaal/horizontaal discriminatie. Er bestaat echter geen correlatie tussen de getallenreeksen

in deze twee situaties. Het maken van veel onjuiste keuzen in fase 1 van het trainprotocol impliceert dus niet dat tijdens fase 2 ook veel onjuiste keuzen worden gemaakt. Dit sluit aan bij de observaties dat na een laesie in de visuele cortex de helderheidsdiscriminatie nog wel-en de patroondiscriminatie niet meer volbracht kan worden (68,143). Met andere woorden; de neuronale structuren betrokken bij beide discriminatietaken zijn waarschijnlijk niet identiek. Vandaar dat het niet mag verbazen dat de aantallen onjuiste keuzen, gemaakt bij beide leerprocessen, niet gecorreleerd zijn.

STABILITEIT VAN HET GEHEUGENSPOOR

4.1. Inleiding

Er zijn bij het konijn gegevens bekend betreffende de duurzaamheid van het geheugenspoor. Het navolgende experiment dient om na te gaan wat het gevolg is van een onderbreking in de patroondiscriminatie training. Daartoe werden tweeëntwintig konijnen getraind volgens protocol B (Fig. 10). Allereerst leerden zij het onderscheid tussen een drietal patrooncombinaties. Na het bereiken van het criterium van het derde patroondiscriminatieprobleem (fase 3) werd het patroondiscrimineren gedurende 152 dagen onderbroken. Daarna werden de konijnen opnieuw met dezelfde drie patrooncombinaties in dezelfde volgorde getraind tot het bereiken van het criterium.

4.2. Resultaten

In Tabel 2 zijn de gemiddelde waarden weergegeven voor het aantal dagen-, het aantal presentaties- en het aantal onjuiste keuzen tot en met het bereiken van het criterium. Vier voorbeelden van traincurves zijn afgebeeld in Fig. 11 (pag. 40). De hertraining verliep voor alle patrooncombinaties sneller en met minder onjuiste keuzen. Het criterium van de licht/donker discriminatie werd door twintig konijnen al op de eerste dag van de hertraining bereikt. De overige twee hadden hiervoor 2 dagen nodig. De verticaal/horizontaal discriminatie werd vervolgens op de eerste dag door alle tweeëntwintig konijnen met 90% of meer juiste keuzen voltooid. In het derde onderdeel van de hertraining bedroeg dit aantal negentien, terwijl de overige drie 2 dagen nodig hadden voor het bereiken van het criterium. De afname in het aantal onjuiste keuzen is voor de drie patrooncombinaties significant (rangtekentoets, $\alpha < 0.01$). Er bestond overigens een significante, positieve correlatie tussen de aantallen onjuiste keuzen van fase 2 en fase 3 (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 22$, $R = 931.5$, $0.02 < \alpha < 0.05$).

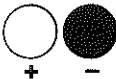


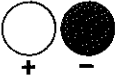








FASE	PATROONCOMBINATIE	AANTAL PRESENTATIES PER DAG	CRITERIUM IN % JUISTE KEUZEN
1.		100	1 dag \geq 90%
2.		100	1 dag \geq 90%
3.		100	1 dag \geq 90%
PATROONDISCRIMINATIE GEDURENDE 152 DAGEN ONDERBROKEN			
4.		100	1 dag \geq 90%
5.		100	1 dag \geq 90%
6.		100	1 dag \geq 90%

Fig. 10: Patroondiscriminatietraining volgens protocol B.

	 			 			 		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
Eerste Training	2.9	291	71	2.2	227	54	2.8	281	70
Tweede Training	1.1	109	9	1.0	100	6	1.1	114	8







Tabel 2: *Patroondiscrimineren van tweeëntwintig konijnen die volgens protocol B werden getraind.*

a = aantal dagen tot en met criterium

b = aantal presentaties tot en met criterium

c = aantal onjuiste keuzen tot en met criterium

Als maat voor de stabiliteit van het geheugenspoor werd per konijn de verhouding berekend tussen het aantal onjuiste keuzen van de hertraining en het aantal van de oorspronkelijke training. Deze zogenaamde retentie-index geeft aan tot welk gedeelte van het oorspronkelijke aantal het aantal onjuiste keuzen door de hertraining wordt gereduceerd. De retentie-indices werden per konijn berekend voor de drie hertrainingen. De gemiddelde waarden en de standaardfout staan in Tabel 3. Hieruit blijkt dat de afname van het aantal onjuiste keuzen voor de drie taken gelijk is. De geheugensporen voor deze discriminatieprocessen hebben dus een vergelijkbare stabiliteit

	 		 		 	
RETENTIE-INDEX	0.14		0.12		0.12	
STANDAARD-FOUT (SE)	0.02		0.02		0.02	

Tabel 3: *Gemiddelde retentie-index van tweeëntwintig konijnen die volgens protocol B werden getraind.*

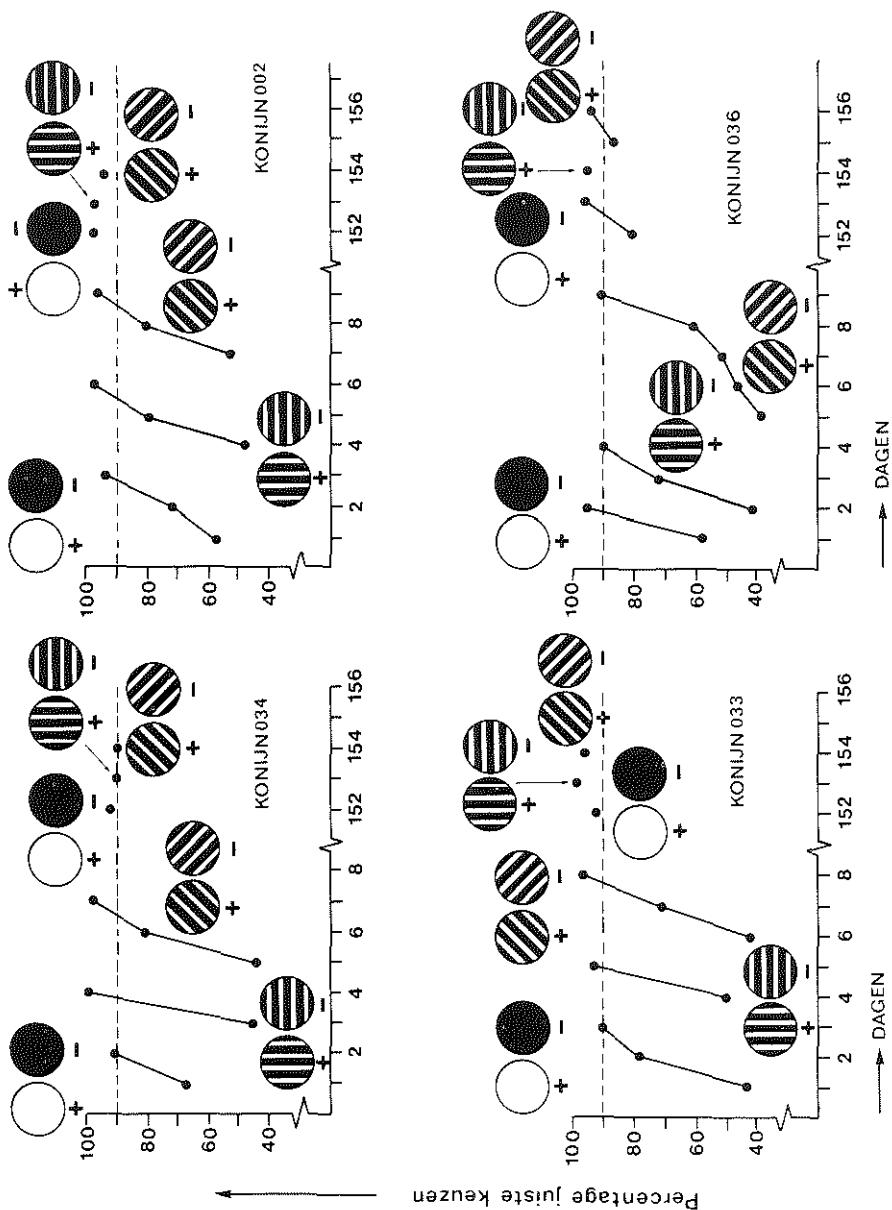


Fig. 11: Vier voorbeelden van traincurven van konijnen die volgens protocol B werden getraind.

4.3. Conclusie

Een hertraining ruim 4½ maand na het voltooien van een patroondiscriminatietraining gaat gepaard met significant minder onjuiste keuzen. Het criterium van 90% of meer juiste keuzen wordt veel sneller bereikt; in het merendeel der gevallen gebeurt dit al op de eerste trindag. Dit betekent dat het bereiken van 90% of meer juiste keuzen een goede maat is voor het einde van de consolidatie van het geheugenspoor. Bovendien treedt er gedurende een lange periode na deze consolidatie geen verval op van het geheugenspoor. De stabiliteit van het geheugenspoor bedraagt, onder deze omstandigheden, dus tenminste 4½ maand. De retentie-index is een goede maat voor de stabiliteit van het geheugenspoor.

VERDWIJNT HET GEHEUGENSPOOR TIJDENS EXTINCTIE?

5.1. Inleiding

Zoals bleek, blijft het geheugenspoor voor patroondiscrimineren gedurende tenminste 4½ maand geconsolideerd. De vraag rijst of dit geheugenspoor tijdens een extinctieprocedure uitgewist kan worden. In vele leersituaties treedt extinctie op, wanneer een stimulus zijn oorspronkelijke betekenis (bijvoorbeeld beloning) verliest. Zo kan bijvoorbeeld tijdens de training achter een luik met horizontale zwart-wit strepen geen voedsel worden verkregen en achter een luik met verticale zwart-wit strepen wel. Tijdens de extinctieprocedure worden beide patronen beloond. Na een zekere tijd zal dan het verworven gedragspatroon, te weten het in 90% of meer van de presentaties kiezen van het oorspronkelijk beloonde patroon, verdwijnen.

Als grens voor het verdwijnen van het onderscheid werd in onderstaand experiment die dag genomen, waarop minder dan 75% "juiste" keuzen werden gemaakt. Nadat zo extinctie van het verworven gedragspatroon was opgetreden, werd op de volgende dag begonnen met een hertraining van de oorspronkelijke discriminatietask. De beloning was in deze situatie weer achter één patroon te verkrijgen. Eenendertig konijnen uit hoofdstuk 3 werden tijdens het experiment getraind volgens protocol C (Fig. 12, pag. 44). Dit protocol was eigenlijk een voortzetting van protocol A (Fig. 8, pag. 31). Fase 2.2 werd in protocol C opgenomen als bekrachtiging van de verticaal/horizontaal discriminatie. Alle eenendertig konijnen haalden op vier achtereenvolgende dagen na fase 2.1 het criterium. Vervolgens werden ze tijdens fase 2.3 net zo lang getraind tot op één dag minder dan 75% "juiste" keuzen werden gemaakt.

5.2. Resultaten

In tabel 4 zijn de resultaten weergegeven voor fase 2.3, de extinctieprocedure en fase 2.4, de hertraining. Gegevens van de oorspronkelijke

discriminatietaken (fase 1 en 2.1) zijn weergegeven in Tabel 1 (pag. 33). Twee kenmerkende traincurves zijn afgebeeld in Fig. 13 (pag. 47). Uit Fig. 13 en Tabel 4 blijkt dat de extinctieprocedure op een kenmerkende wijze verliep. Gedurende geruime tijd bleef het percentage juiste keuzen ruim boven 90% om dan snel tot minder dan 75% te dalen. Gemiddeld duurde dit 8.8 dagen, tijdens welke 438 presentaties werden aangeboden. De variatie hierin was groot met uiterste waarden van 2 tot 25 dagen. Twee konijnen vertoonden geen extinctie van het kiezen van het verticale patroon. Konijn 486 bleef na 36 dagen met totaal 1800 presentaties nog steeds boven 90% en maakte daarbij slechts 3 "onjuiste" keuzen. Konijn 444 maakte in 64 dagen met 3200 presentaties slechts 7 "onjuiste" keuzen.

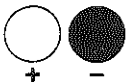




FASE	PATROONCOMBINATIE	AANTAL PRESENTATIES PER DAG	CRITERIUM IN % JUISTE KEUZEN
1.		100	1 dag \geq 90%
2.1.		100	1 dag \geq 90%
2.2.		100	4 dagen \geq 90%
2.3.		50	1 dag $<$ 75%
2.4.		100	1 dag \geq 90%

Fig. 12: *Patroondiscrimineren volgens protocol C. Fase 2.3 is een extinctieprocedure.*

FASE 2.3.

FASE 2.4.



Nº:	a	b	c	a	b	c
432	6	300	35	8	800	238
433	3	150	42	2	200	28
434	12	600	45	1	200	5
436	6	300	45	2	200	22
437	10	500	55	5	500	75
438	25	1250	31	2	200	22
439	2	100	27	3	300	65
440	17	850	79	4	377	76
443	7	350	44	2	200	21
444	64*	3200*	7*			
445	8	400	42	3	300	37
446	5	250	43	3	300	32
448	9	450	38	2	200	25
449	9	450	32	2	200	33
462	7	350	36	2	200	23
463	18	900	78	5	500	122
470	12	600	36	3	300	40
471	5	250	37	3	300	43
473	16	800	60	3	300	33
475	3	150	26	2	200	15
477	4	200	36	1	100	10
479	5	250	40	2	200	29
480	4	200	39	4	400	55
481	8	400	50	1	100	10
482	10	500	37	1	100	6
486	36*	1800*	3*			
487	12	600	42	2	200	20
488	4	200	27	1	100	9
489	11	550	38	1	100	1
490	6	300	40	1	100	9
491	12	600	31	1	100	7
\bar{x}	8.8	438	42	2.5	247	38

Tabel 4: Extinctietraining van eenendertig konijnen die volgens protocol C werden getraind.

a = aantal dagen tot en met criterium

b = aantal presentaties tot en met criterium

c = aantal onjuiste keuzen tot en met criterium

* = criterium niet bereikt

Het aantal "onjuiste" keuzen dat tijdens de extinctieprocedure werd gemaakt, bedroeg gemiddeld $42(SE \pm 2.4)$. Per konijn bestond tussen dit aantal en het aantal presentaties geen significant verband (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 29$, $R = 2557.5$, $\alpha > 0.05$). Men zou dit als volgt kunnen omschrijven: overschrijdt het aantal beloonde "onjuiste" keuzen een zekere drempelwaarde, dan zakt het percentage "juiste" keuzen beneden 75%. Extinctie was dus onafhankelijk van het aantal presentaties. Bovendien was er geen verband aantoonbaar tussen de aantallen onjuiste keuzen tijdens fase 2.1 en fase 2.3 (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 29$, $R = 4386$, $\alpha > 0.1$). Dit betekent dat de mate van leren in fase 2.1 noch positief noch negatief was gecorreleerd aan de mate van extinctie.

De hertraining tijdens fase 2.4, waarin het luik met het horizontale patroon opnieuw vergrendeld bleef, werd in gemiddeld 247 presentaties voltoerd. Voor de oorspronkelijke training was dit aantal 349. Het aantal onjuiste keuzen tijdens fase 2.4 was gemiddeld 38; tijdens fase 2.1 was dit 95. Deze afname is significant (rangtekentoets: $n = 29$, $V = -387$, $\alpha < 0.01$). Het is daarbij opvallend dat acht konijnen direct op de eerste dag van fase 2.4 het criterium bereikten. Zodra het luik met het horizontale patroon werd afgesloten, vermeden zij dit luik weer. Het geheugenspoor hiervoor was dus intact en van uitwissing door de extinctieprocedure was geen sprake.

Per konijn werd de retentie-index berekend na de extinctieprocedure van de verticaal/horizontaal discriminatie. Deze index werd verkregen door het aantal onjuiste keuzen van fase 2.4 te delen door het aantal van fase 2.1. Vervolgens werd de gemiddelde waarde berekend. Deze bedroeg $0.44 (SE \pm 0.08)$. De retentie-index van deze discriminatie zonder tussenliggende andere patroondiscriminaties was $0.12 (SE \pm 0.02)$, zie pag. 39). Dit verschil is significant (Wilcoxon: $n_1 = 22$, $n_2 = 29$, $n = 51$, $S = 379.5$, $\alpha < 0.01$).

De extinctieprocedure heeft dus een effect op het geheugenspoor zonder tot een totaal verdwijnen hiervan te leiden. In dat geval zou de retentie-index namelijk rond de 1 moeten liggen, terwijl geen der konijnen

direct het criterium in fase 2.4 zou kunnen halen. De verhoging van de retentie-index door een extinctieprocedure past in de denkbeelden van Kupfermann (80). Deze auteur beredeneerde dat het extinctieproces veel-
eer een actief onderdrukken van het verworven gedrag is, dan een passief verdwijnen er van. Tijdens een hertraining kon dit onderdrukkingsproces snel weer ongedaan worden gemaakt.

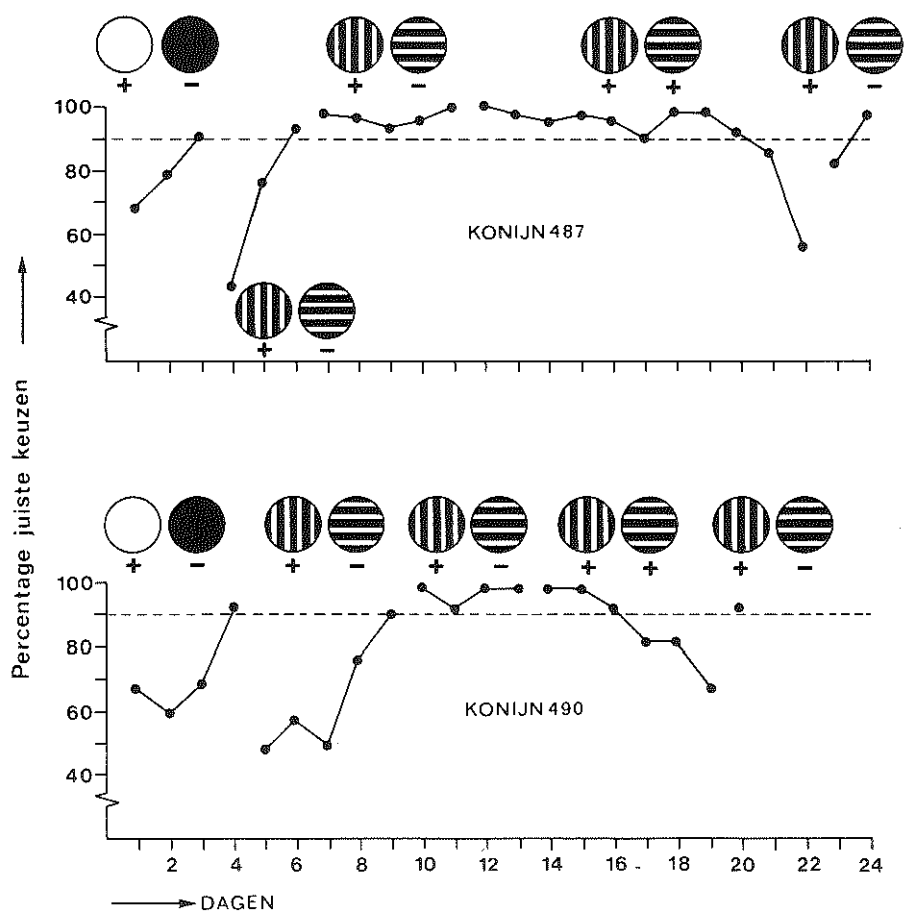


Fig. 13: Twee voorbeelden van traincurven van konijnen die volgens protocol C werden getraind.

5.3. Conclusie

Tijdens een extinctieprocedure vertoonde het percentage "juiste" keuzen bij praktisch alle konijnen een sterke daling. De daling trad op nadat een zekere drempelwaarde van het aantal "onjuiste" keuzen was overschreden. Deze drempelwaarde was onafhankelijk van het aantal presentaties. Een aansluitende hertraining verliep sneller en met minder onjuiste keuzen dan het oorspronkelijke leerproces. Hoewel de retentie-index 0.44 bedroeg, haalden toch acht van de negenentwintig konijnen op de eerste dag van de hertraining het criterium. Dit duidt er op dat het oorspronkelijke geheugenspoor intact bleef. Mogelijk trad tijdens de extinctieprocedure een actieve onderdrukking op van het geheugenspoor. Door hertraining, aansluitend aan de extinctieprocedure, vertoonden de konijnen snel opnieuw het oorspronkelijk verworven gedragspatroon.

HET GEHEUGENSPOR TIJDENS OMKERING VAN DE POSITIE VAN DE BELONING

6.1. Inleiding

In het navolgende experiment werd bij eenentwintig konijnen nagegaan hoe het leerproces verliep, wanneer de positie van de beloning afhankelijk was van twee identieke patronen. Vervolgens werd het leerproces na omkering van de positie van de beloning onderzocht. Tijdens de experimenten welke in de voorgaande hoofdstukken werden beschreven, was het voor het konijn steeds mogelijk tijdens één presentatie het beloonde- en het niet-beloonde patroon te zien. Zoals vermeld, bleek in een dergelijke situatie een juiste keuze voornamelijk af te hangen van de positie van het niet-beloonde patroon.

Indien beide patronen identiek zijn, bestaat de mogelijkheid niet langer om per presentatie onderscheid te maken tussen twee patronen. In fase 4 van protocol D (Fig. 14) werd de konijnen een dergelijk type patroon-discriminatie geleerd. Per dag werden in willekeurige volgorde 50 presentaties van beide patrooncombinaties aangeboden. Het rechter luik werd bij de combinatie verticaal/verticaal beloond en het linker bij de combinatie horizontaal/horizontaal. Daar deze combinaties in willekeurige volgorde werden afgewisseld, werd voorkomen dat de konijnen een vaste strategie ontwikkelden door steeds te proberen het rechter luik of het linker te openen.

Nadat op één dag met 100 presentaties het criterium van 90% of meer juiste keuzen was bereikt, werd overgegaan naar fase 5. Hierin werd de discriminatietask van fase 4 omgekeerd. Dit betekende dat nu bij de combinatie verticaal/verticaal het linker en bij de combinatie horizontaal/horizontaal het rechter luik werd beloond. Na het bereiken van het criterium tijdens deze fase werd tenslotte opnieuw getraind met de patronen van fase 3 gevolgd door een extinctieprocedure.











FASE	PATROONCOMBINATIE	AANTAL PRESENTATIES PER DAG	CRITERIUM IN % JUISTE KEUZEN
1.		100	1 dag \geq 90%
2.		100	1 dag \geq 90%
3.		100	1 dag \geq 90%
4.		100	1 dag \geq 90%
5.		100	1 dag \geq 90%
6.		100	1 dag \geq 90%
7.		50	1 dag < 75%

Fig. 14: *Patroondiscrimineren volgens protocol D; + representeert het beloonde patroon. In de fasen 1, 2, 3 en 6 werd dit in willekeurige volgorde op het linker- of het rechter luik geprojecteerd (Fig. 7, pag. 27). De fasen 4 en 5 bestonden uit een zogenaamde positiediscriminatie. Hierin was de positie van de beloning afhankelijk van de oriëntatie van twee identiek gestreepte patronen. In willekeurige volgorde werden per dag 50 presentaties van beide keuzemogelijkheden aangeboden. Fase 7 bestond uit een extinctieprocedure (zie pag. 43).*

6.2. Resultaten

In Tabel 5 zijn de gemiddelde waarden weergegeven van het aantal dagen, het aantal presentaties en het aantal onjuiste keuzen voor de zeven fasen van protocol D. Drie representatieve traincurves zijn afgebeeld in

Fig. 15. Voor de eerste drie fasen werden per konijn de aantallen onjuiste keuzen statistisch bewerkt. De aantallen tijdens fase 2 waren significant minder dan tijdens fase 3 (rangtekentoets: $n = 21$, $V = -124$, 0.02 , $<\alpha < 0.05$). Bovendien bestond er een positieve correlatie tussen de aantallen onjuiste keuzen in fase 2 en 3 (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 21$, $R = 806.5$, 0.02 , $<\alpha < 0.05$). Een dergelijk verband was niet aanwezig tussen fase 1 en 2 (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 21$, $R = 1221$, $\alpha > 0.1$). Dit betekent dat de leerprocessen tijdens beide patroondiscriminatietaken (fase 2 en 3) verwant zijn.

FASE	PATROONCOMBINATIE	a	b	c
1.		3.0	295	73
2.		2.2	223	54
3.		2.9	286	71
4.		7.8	780	231
5.		15.6	1556	674
6.		1.8	176	19
7.		6.3	314	40

Tabel 5: *Patroondiscrimineren van eenentwintig konijnen die volgens protocol D werden getraind.*

a = gemiddeld aantal dagen tot en met criterium

b = gemiddeld aantal presentaties tot en met criterium

c = gemiddeld aantal onjuiste keuzen tot en met criterium

In Tabel 6 zijn de getallen van de fasen 4 en 5 per konijn weergegeven. Het bereiken van het criterium in fase 4 duurde significant langer dan tijdens bijvoorbeeld fase 3 (rangtekentoets: $n = 21$, $V = +229$, $\alpha < 0.01$). Bovendien werden hierin meer onjuiste keuzen gemaakt (rangtekentoets: $n = 21$, $V = +231$, $\alpha < 0.01$). De aantallen onjuiste keuzen tijdens fase 4 waren echter noch positief noch negatief gecorreleerd aan die van fase 2 of fase 3.

Het bereiken van het criterium in fase 5 duurde langer dan in fase 4 en ging gepaard met meer onjuiste keuzen (rangtekentoets: $\alpha < 0.01$). Als maat voor het leren van de tegengestelde patroondiscriminatietaak werd per konijn de omkerings-index (O.I.) berekend. Deze werd verkregen door het aantal onjuiste keuzen van fase 5 te delen door het aantal van fase 4 (72, 117). Gemiddeld was deze = O.I. 3.8 met uiterste waarden van 0.1 tot 11.3. De omkerings-index kan dienen als maat voor de moeilijkheidsgraad van het leren van een tegengestelde discriminatietaak. In dit experiment betekent de waarde van 3.8 dat konijnen in een positiediscriminatie na omkering van de betekenis van de patrooncombinaties gemiddeld 3.8 maal zoveel onjuiste keuzen maakten om het criterium te bereiken.

De drie traincurves in Fig. 15 laten zien dat het percentage juiste keuzen op de eerste dag van fase 5 duidelijk beneden dat van de eerste vier fasen lag. In Tabel 7 zijn per konijn de percentages juiste keuzen op de eerste dag van fase 1 tot en met 5 weergegeven. De gemiddelde waarden en de standaardfout (SE) van de scores op de eerste dag zijn eveneens berekend. Duidelijk valt af te leiden dat voor een onbekende patrooncombinatie de score op de eerste dag rond de 58% ligt. Er zijn voor de vier geteste patrooncombinaties nauwelijks verschillen. Zoals te verwachten was, bleek de score op de eerste dag van fase 5 significant minder te zijn dan de score van fase 4 (rangtekentoets: $n = 21$, $V = -225$, $\alpha < 0.01$). Het percentage juiste keuzen op die dag werd dus nadelig beïnvloed door het geheugenspoor voor de discriminatietaak van fase 4.

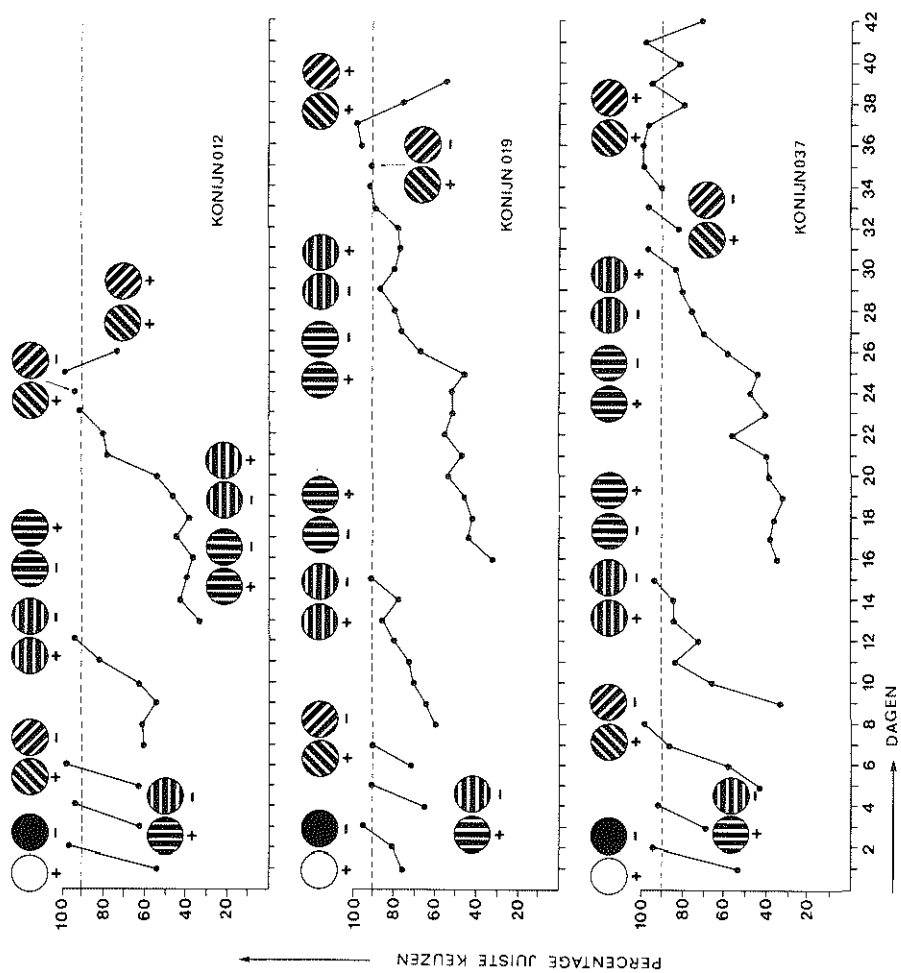










Fig. 15: Drie traincurves van konijnen die volgens protocol D (pag. 50) werden getraind.

FASE 4.

FASE 5.






O.I.

NO:	   			   			
	a	b	c	a	b	c	
001	14	1400	298	20	2000	842	2.8
002	9	867	276	20	2000	801	2.9
003	18	1800	546	23	2300	1016	1.9
006	12	1200	542	11	1100	534	1.0
007	7	700	135	23	2289	910	6.7
008	7	700	143	23	2300	1168	8.2
009	6	600	214	20	2000	853	4.0
012	6	600	187	11	1100	510	2.7
016	9	900	328	17	1700	672	2.0
019	8	800	201	19	1900	703	3.5
023	6	600	177	7	700	316	1.8
027	10	1000	361	23	2300	1171	3.4
029	5	500	113	7	700	275	2.4
030	4	400	85	7	700	223	2.6
031	11	1100	487	23	2300	831	1.7
032	6	600	156	5	500	252	1.6
033	5	500	124	11	1100	450	3.6
034	5	421	83	16	1590	769	9.3
035	6	600	154	10	1000	430	2.8
036	4	400	64	15	1500	724	11.3
037	7	700	179	16	1600	717	4.0
\bar{x}	7.8	780	231	15.6	1556	674	3.8

Tabel 6: Getallen van het patroondiscrimineren van eenentwintig konijnen die volgens protocol D werden getraind. Tijdens fase 4 en fase 5 was de positie van de beloning afhankelijk van twee identieke patronen. De discriminatietask in fase 5 was een omkering van die in fase 4 (zie ook Fig. 15, pag. 53). De omkerings-index(O.I.) werd verkregen door het aantal onjuiste keuzen van fase 5 te delen door dat van fase 4.

Een nadere analyse van de eenentwintig leercurves liet zien dat er in fase 5 een veel groter aantal dagen was waarop het percentage juiste keuzen rond kansniveau lag. Wanneer eenmaal een grens van 60% juiste keuzen blijvend werd overschreden, kostte het in fase 4 en 5 ongeveer evenveel dagen om het criterium te bereiken. Dit aantal was in fase 4 gemiddeld 4.7 dagen en in fase 5 gemiddeld 5.1 dagen (rangtekentoets: $n = 21$, $V = +18$, $\alpha > 0.1$). Dit maakt aannemelijk dat het eigenlijke leerproces tijdens fase 4 en 5 even snel en op vergelijkbare wijze verliep. Tijdens fase 5 werden echter bij aanvang meer onjuiste keuzen gemaakt

en er trad bovendien een langere aanlooperperiode op voordat het percentage juiste keuzen boven 60% bleef. Deze aanlooperperiode veroorzaakte grotendeels het twee maal zo grote aantal dagen en het bijna vier maal zo grote aantal onjuiste keuzen van fase 5.

NO:	FASE 1.	FASE 2.	FASE 3.	FASE 4.	FASE 5.
	 + -	 + -	 + -	 + -	 + -
001	61	51	66	62	38
002	57	48	54	52	20
003	49	79	55	73	20
006	68	58	67	55	35
007	52	41	55	83	25
008	63	47	78	68	27
009	94	51	51	60	34
012	54	64	64	60	34
016	80	56	66	59	34
019	76	66	72	60	33
023	45	46	55	37	38
027	71	63	47	49	25
029	78	66	76	70	22
030	53	76	63	67	35
031	58	52	66	41	32
032	66	51	62	72	30
033	44	50	43	51	24
034	68	47	44	50	42
035	51	48	48	54	28
036	58	42	38	73	27
037	54	70	45	34	35
\bar{x}	62	56	58	59	31
SE	3	2	3	3	1

Tabel 7: Percentage juiste keuzen op de eerste dag van een nieuwe fase in protocol D. Tijdens de eerste vier fasen werd telkens een onbekende patroondiscriminatietaak aangeboden: tijdens fase 5 betrof het de tegengestelde taak van fase 4.

De grens van meer dan 60% juiste keuzen werd betrekkelijk willekeurig gekozen als uitgangspunt voor het begin van het leerproces. De waarden van het percentage juiste keuzen op de eerste dag van de fasen 1 t/m 4 varieerden van 34% tot 94%. Gezien deze spreiding (Tabel 7) valt van de 60%-grens, noch van enige andere waarde, met zekerheid te zeggen dat deze het begin van het leerproces markeert. De 60%-grens diende slechts als een mogelijke referentiewaarde die vergelijking tussen beide leerprocessen mogelijk maakt.

Fase 6, de hertraining van de $45^\circ/135^\circ$ discriminatie, verliep in gemiddeld 176 presentaties, waarbij gemiddeld 19 onjuiste keuzen werden gemaakt (Tabel 5, pag. 51). Elf konijnen bereikten al op de eerste dag het criterium. Ten opzichte van fase 3 betekende dit een significante vermindering van het aantal onjuiste keuzen (rangtekenttoets: $n = 21$, $V = -231, \alpha < 0.01$). Het geheugenspoor voor deze discriminatie was dus gedurende de fasen 4 en 5 grotendeels intact gebleven. De tijd tussen het einde van fase 3 en het begin van fase 6 bedroeg gemiddeld 23.4 dagen met uiterste waarden van 11 tot 41 dagen. Per konijn werd als maat voor het behoud van het geheugenspoor de retentie-index berekend. Deze werd verkregen door het aantal onjuiste keuzen van fase 6 te delen door het aantal van fase 3. Gemiddeld bedroeg de retentie-index 0.32 ($SE \pm 0.06$) hetgeen betekent dat het aantal onjuiste keuzen tijdens deze fase ongeveer 1/3 bedroeg van dat tijdens de oorspronkelijke training. Vergelijking met een hertraining na 152 dagen van de $45^\circ/135^\circ$ discriminatie (pag. 39) laat zien dat die een gemiddelde retentie-index had van 0.12 ($SE \pm 0.02$). Ondanks het korte interval tussen de fasen 3 en 6 interfereren de leerprocessen van de fasen 4 en 5 kennelijk met de stabiliteit of met het uitlezen van het geheugenspoor van de $45^\circ/135^\circ$ discriminatie.

De laatste stap van protocol D was een extinctieprocedure van de $45^\circ/135^\circ$ discriminatie. Als grens voor het verdwijnen van het onderscheid werd die dag genomen waarop minder dan 75% juiste keuzen werden gemaakt. De score van deze dag werd meegeteld in de berekening van de totaalscore. Gemiddeld waren voor het negeren van het verschil tussen de beide patronen 6.3 dagen met 314 presentaties nodig, met uiterste waarden van 50 tot 700 presentaties. Het aantal onjuiste keuzen bedroeg hierbij gemiddeld 40 ($SE \pm 4$). Wanneer deze gegevens vergeleken worden met die van de extinctieprocedure van de verticaal/horizontaal discriminatie (hoofdstuk 5) dan blijkt dat de drempelwaarde voor het optreden van extinctie dezelfde is. Er werden echter significant minder presentaties gebruikt (Wilcoxon: $n_1 = 21$, $n_2 = 31$, $n = 52$, $S = 447.5, \alpha < 0.05$). Bovendien was er tijdens deze extinctieprocedure wel een positieve correlatie tussen het aantal presentaties en het aantal onjuiste keuzen (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 21$, $R = 171.5, \alpha < 0.001$).

Zoals eerder werd aangegeven, duidt de positieve correlatie tussen het aantal onjuiste keuzen tijdens fase 2 en fase 3 op een nauw verwant leerproces. De extinctieprocedure voor beide discriminatietaken vertoonden een vergelijkbare drempelwaarde. Echter mogelijk ten gevolge van de fasen 4, 5 en 6 in protocol D trad de extinctie in fase 7 sneller op met bovendien een positieve correlatie tussen aantal presentaties en aantal onjuiste keuzen. Volgens deze gedachtengang zouden konijnen die volgens protocol D werden getraind, sneller in staat zijn hun verworven gedrag aan te passen aan het veranderde beloningspatroon van de extinctieprocedure.

Tijdens de fasen 1 t/m 5 bestond er een goede correlatie tussen de aantallen presentaties en onjuiste keuzen (Spearman: $\alpha < 0.001$). De R_s van de verschillende fasen varieerde van 0.74 tot 0.96. Tijdens deze fasen lijkt er dus een geleidelijk aanleren van de discriminatietask te bestaan onafhankelijk van de aangeboden patronen.

6.3. Conclusie

Het aanleren van een discriminatietask waarin de positie van de beloning afhankelijk is van twee identieke patronen, duurt langer en gaat gepaard met een groter aantal onjuiste keuzen, dan het aanleren van een discriminatie waarin verschil bestaat tussen twee patronen. Wanneer het aantal onjuiste keuzen als maat wordt genomen, dan kan men stellen dat een patroondiscriminatie van het eerste type moeilijker is te leren. Bij beide leerprocessen bestaat een goede correlatie tussen de aantallen presentaties en onjuiste keuzen.

Omkering van de plaats van de beloning in een positiediscriminatie waarvan het geheugenspoor is geconsolideerd, leidt tot een sterke afname van het percentage juiste keuzen op de eerste dag van deze veranderde training. Het bereiken van het criterium duurt vervolgens twee maal zo lang, terwijl daarbij bijna vier maal zoveel onjuiste keuzen worden gemaakt. De omkerings-index (O.I.) is hiervoor een bruikbare maat. Wanneer het percentage juiste keuzen eenmaal boven een arbitraire grens van 60% blijft, dan zijn beide leerprocessen praktisch gelijk. De eerder genoemde verschillen treden dus op vóór het bereiken van deze grens. Mogelijk

wordt dit veroorzaakt doordat het geheugenspoor voor de oorspronkelijke taak interfereert met de consolidatie van het geheugenspoor voor de tegengestelde taak.

Het geheugenspoor van de $45^{\circ}/135^{\circ}$ discriminatie blijkt na twee tussenliggende andere patroondiscriminatietrainingen nog grotendeels intact te zijn. De retentie-index bedraagt hiervoor gemiddeld 0.32, terwijl deze zonder interferentie gemiddeld 0.12 is (pag. 39). Het uitlezen van het geheugenspoor wordt kennelijk wel bemoeilijkt door de tussenliggende discriminatietrainingen.

Een extinctieprocedure voor de $45^{\circ}/135^{\circ}$ discriminatie verloopt sneller wanneer deze volgens protocol D (pag. 50) wordt uitgevoerd, dan een extinctieprocedure voor de verticaal/horizontaal discriminatie volgens protocol C (pag. 44). Dit kan mogelijk worden toegeschreven aan de tussenliggende trainingen van protocol D, waardoor konijnen het verworven gedrag sneller aanpassen. Beide extinctieprocedures hebben wel een vergelijkbare drempelwaarde van 40 tot 42 "onjuiste" keuzen.

HET KONIJN TIJDENS HYPOBARE HYPOXIE

7.1. Inleiding

Sedert geruime tijd is bekend dat het electrisch opwekken van een insult, een zogenaamde electroconvulsieve shock (ECS), leerprocessen bij proefdieren kan beïnvloeden (31, 111, 120, 131). Thompson en Dean (131) trainden ratten op het maken van onderscheid tussen verticale en horizontale zwart-wit strepen. Direct na het beëindigen van de trainprocedure van deze visuele discriminatietask ondergingen de ratten een ECS. Wanneer deze behandeling binnen een bepaalde tijd na de training werd gegeven, waren de prestaties bij hertraining significant slechter dan van controle-dieren. Een ECS was dus in staat een retrograde amnesie te veroorzaken.

Uit andere gegevens was gebleken dat hypoxie een vergelijkbare invloed had op het vermogen een discriminatietask te onthouden (60). Thompson en Bryer (132) gebruikten de proefopzet van Thompson en Dean (131) om deze bevinding nader te onderzoeken. Als methode van hypoxie maakten zij gebruik van een onderdruktank. Hierin verbleven ratten gedurende 10 minuten bij een druk van 349 mm Hg (46.5 kPa), hetgeen overeenkwam met een partiële dampspanning van zuurstof van 73 mm Hg (9.7 kPa). Wanneer ratten binnen 15 minuten na de trainprocedure aan hypobare hypoxie werden blootgesteld, ontstond een retrograde amnesie voor de visuele discriminatietask.

Sindsdien zijn vele artikelen verschenen waarin melding werd gemaakt van het optreden van retrograde amnesie na hypoxie (7, 23, 31, 32, 40, 43, 44, 120, 121). Andere onderzoekers konden deze bevinding echter niet bevestigen (141). In 1979 wijdde Flohr een uitgebreid overzichtsartikel aan de door hypoxie veroorzaakte retrograde amnesie (41). Hij concludeerde onder meer dat hypoxie onder bepaalde omstandigheden wel degelijk een retrograde amnesie kon veroorzaken, maar dat de resultaten door een

groot aantal variabelen konden worden beïnvloed. Tot deze variabelen behoorden de duur van de training en de duur van de periode tussen training en hypoxie. Temidden van de onzekerheden waren inmiddels verschillende rapporten verschenen waarin werd beschreven dat farmaca het optreden van retrograde amnesie konden tegengaan (4, 52, 119).

In de literatuur werd een grote verscheidenheid van methoden gebruikt voor het opwekken van cerebrale hypoxie. Brierley (22) heeft een overzicht gegeven van deze methoden, welke varieerden van het verminderen van de doorbloeding van de hersenen ("ischaemische hypoxie") of het laten inademen van een gasmengsel zonder zuurstof ("anoxische hypoxie") tot het verminderen van de partiële dampspanning door onderdruk ("hypobare hypoxie").

Deze laatste methode werd al door Robert Boyle in de zeventiende eeuw gebruikt voor het doen van overlevings-experimenten onder lage luchtdruk (42). Deze onderdrukmethode bleek later een goede manier te zijn voor het veroorzaken van een reguleerbare en reproduceerbare graad van algehele hypoxie (23, 123). Voor de bestudering van de gevolgen van hypoxie werd de onderdrukmethode op de afdeling Fysiologie I van de Erasmus Universiteit Rotterdam geïntroduceerd.

Door manipuleren met het drukniveau in de onderdruktank bleek het mogelijk een mate van hypoxie te verkrijgen welke duidelijke gevolgen had voor proefdieren, zonder dat frequent fatale complicaties optraden. Voor konijnen bleek een periode van 10 minuten in een onderdruktank waarin een druk van 190 mm Hg (25.3 kPa) heerste, aan deze voorwaarden te voldoen. In Tabel 8, welke is ontleend aan Guyton (56), zijn waarden van zuurstof- en koolzuurspanning weergegeven. De alveolaire partiële zuurstofspanning blijkt bij reductie van luchtdruk buiten het lichaam tot 25% van de uitgangswaarde, af te nemen tot 15 mm Hg, hetgeen ongeveer 15% is van de uitgangswaarde. Betreffende tabel geldt voor de mens, maar het lijkt niet onredelijk aan te nemen dat de gegevens in grote lijnen gelijk zijn aan die van het konijn

p in mm Hg	p_{O_2} in mm Hg	p_{CO_2} in mm Hg	p_{O_2} in mm Hg
buitenlucht	buitenlucht	alveolair	alveolair
<u>760</u>	<u>159</u>	<u>40</u>	<u>104</u>
570	119	37	75
380	79	25	45
<u>190</u>	<u>39</u>	<u>24</u>	<u>15</u>
141	29	24	8
87	18	24	1

Tabel 8: *Relatie tussen de omgevingsluchtdruk en de alveolaire dampspanning. Ontleend aan Guyton (56).*

Dit zou betekenen dat onder de gebruikte experimentele omstandigheden de alveolaire p_{O_2} van het konijn gelijk zou zijn aan 15 mm Hg. In dat geval is de arteriële zuurstofspanning maximaal 15 mm Hg. In dieren die spontaan ademen, kunnen beneden deze p_{O_2} ademstilstand en circulatoire insufficiëntiesnel optreden (22). Schmidt-Nielsen (123) heeft de zuurstof-dissociatiecurven van een aantal diersoorten weergegeven. Hieruit is van een gegeven diersoort het verband af te leiden tussen p_{O_2} en zuurstofsaturatie van het bloed. Naarmate de diersoort kleiner is, neemt de dissociatiegraad bij gelijke p_{O_2} toe. Daardoor wordt de afgifte van zuurstof aan de weefsels bevorderd, hetgeen in verband staat met de grotere zuurstofbehoefte per gram weefsel. Uitgaande van de dissociatiecurven van diersoorten met een vergelijkbaar formaat, is het aannemelijk dat de arteriële zuurstofverzadiging van het konijn bij een p_{O_2} van 15 mmHg tussen 10 en 15% zal liggen.

7.2. De onderdruktank

De onderdruktank bestaat uit een perspex cylinder met een buitendiameter van 30 cm, een lengte van 40 cm en een wanddikte van 0.3 cm. Eén zijde van de tank heeft een los perspex deksel, voorzien van een rubberen binnenring. Aan de tegenoverliggende zijde bevindt zich een opening via welke lucht uit de tank gezogen kan worden met een elektrische compressor (merk: Bauknecht, type VDE0530/72). De tank is nog voorzien van een

derde opening die met een slang in verbinding staat met een luchtinlaat-ventiel (merk: Kendal vacuumregulator type: 16). Wanneer het gewenste drukniveau is bereikt, laat dit regelventiel lucht in de onderdruktank stromen met een snelheid van 8 l per minuut. In de slang van het regelventiel naar de onderdruktank bevindt zich een driewegkraan, waarmee het mogelijk is lucht rechtstreeks buiten het ventiel om in de tank te laten stromen. De druk in de tank kan door middel van een membraanbarometer worden afgelezen. Op de bodem van de onderdruktank bevindt zich een onderlegger om uitglijden van een konijn te voorkomen (Fig. 16).

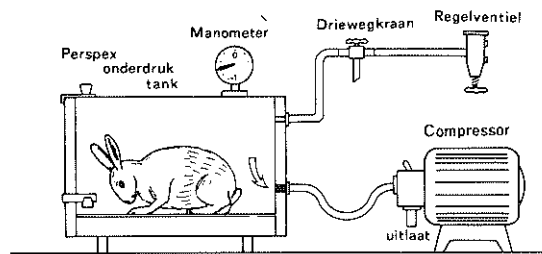


Fig. 16: De onderdruktank. Met de compressor kan lucht uit de onderdruktank worden gezogen. Nadat een bepaald drukniveau is bereikt, stroomt lucht via het regelventiel de onderdruktank in.

Wanneer het deksel is gesloten en de compressor in werking wordt gezet, zal de druk dalen om na 110 seconden een niveau van 190 mm Hg te hebben bereikt. Vanaf dat moment zal het regelventiel lucht laten instromen. De druk blijft 190 mm Hg tot de pomp wordt uitgeschakeld en tegelijkertijd de driewegkraan wordt gedraaid zodat lucht met een druk van 760 mm Hg direct de onderdruktank kan binnenstromen. De druk stijgt dan snel om na 27 sec weer 760 mm Hg (101.3 kPa) te zijn, waarna het deksel geopend kan worden (Fig. 17).

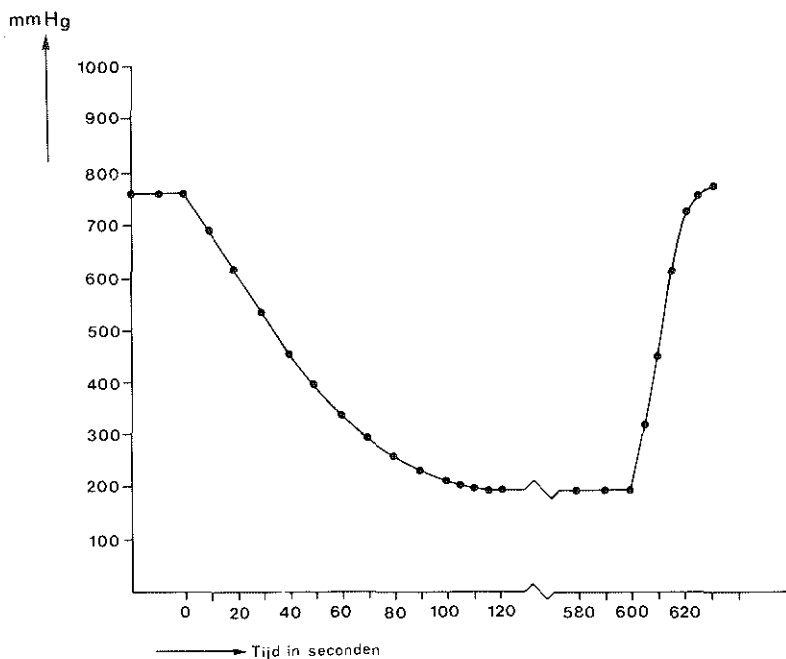


Fig. 17: Drukniveau in de onderdruktank. Op tijdstip $t = 0$ wordt de vacuumpomp tien minuten lang in werking gesteld. Op tijdstip $t = 600$ wordt deze afgezet en wordt de druk weer op de uitgangswaarde gebracht.

7.3. Het verloop van een periode van hypobare hypoxie

Op tijdstip $t = 0$ sec werden de konijnen in de onderdruktank geplaatst en werd het deksel gesloten en de vacuumpomp in werking gesteld. Na 90 tot 150 seconden vertoonden de dieren tekenen van motorische onrust. Dit duurde enige tientallen seconden, gedurende welke tijd er een duidelijke cyanose ontstond van de neuspunt, tong en centrale oorarterie. De spiercontrole over voor- en achterpoten ging gedeeltelijk verloren. Er trad een toenemende opisthotonus op en de adembewegingen verdiepten zich tot "happen" van lucht met gesperde neusgaten. Negen van de tien konijnen vertoonden deze verschijnselen na drie tot vier minuten. Tijdens het verdere verloop van de hypoxieperiode werd de ademhaling en de houding

vrijwel normaal. De konijnen bleven echter op hun plaats zitten. Gedurende het stijgen van de druk tot 760 mm Hg schudden de dieren met de kop en soms traden onwillekeurige spiersamentrekkingen op. Tot enkele minuten na het einde van de hypoxieperiode bleven de konijnen stil zitten.

Konijnen bleken onder deze omstandigheden vaak longafwijkingen te ontwikkelen. In de longen van ongeveer driekwart van de konijnen, waarvan de onderdrukperiode op de bovenvermelde wijze was verlopen, bleken vele puntvormige bloedingen te zijn ontstaan. Deze afwijkingen hadden echter geen observeerbare invloed op het herstel na afloop van de hypobare hypoxie. Problemen met de ademhaling traden ook in latere fasen niet op. In de literatuur zijn vergelijkbare longafwijkingen beschreven welke ontstonden in de longen van ratten na acute decompressie (61, pag. 303).

Ongeveer 10% van de konijnen vertoonden andere verschijnselen na drie tot vier minuten hypobare hypoxie. Geleidelijk verzwakten de adembewegingen en nam de frequentie van de ademhaling af. Deze dieren lagen geheel verslapt op de bodem van de onderdruktank. Tenslotte traden nog zeer kleine happende bewegingen van de bek op, synchroon verlopend met geringe uitzetting van de thoraxwand. De tijd tussen deze adembewegingen werd steeds langer. Na een zeer diepe adembeweging trad een ademstilstand op waarbij alleen nog fasciculaties van de thoraxwand waarneembaar waren. Maximaal twee minuten na deze laatste zeer diepe adembeweging trad hartstilstand op.

Na een ademstilstand kon de ademhaling meestal door uitwendige thoraxmassage op gang gebracht worden, mits er nog hartactie aanwezig was. In voorkomende gevallen van ademstilstand werd daarom de onderdrukperiode zo snel mogelijk beëindigd. In de hoofdstukken waarin de hypoxie-experimenten zijn beschreven, zullen de konijnen waarvan de hypoxieperiode voortijdig werd afgebroken, apart worden vermeld. In de literatuur is vermeld (22) dat bij proefdieren ten tijde van het verdwijnen van de ademhaling ook een vlak EEG ontstond. Histologisch onderzoek van de hersenen liet echter geen beschadigingen zien. Dit betekent dat, na de

hier beschreven methode van hypobare hypoxie, ook na eventueel noodzakelijke reanimatie, waarschijnlijk geen permanente beschadiging van neuronale structuren zal ontstaan.

KAN HYPOBARE HYPOXIE RETROGRADE AMNESIE VEROOZAKEN?

8.1. Inleiding

De onderdrukmethode, welke in het voorgaande hoofdstuk werd beschreven, werd in het navolgende experiment gebruikt om na te gaan of hypoxie een retrograde amnesie kan veroorzaken. Hiertoe werden vierentwintig konijnen getraind volgens protocol E (Fig. 18). Fase 1 en 2 verliepen zoals op pag. 19 tot en met 23 is besproken. Tijdens deze fasen duurde één serie van 100 presentaties gemiddeld 20 minuten. Dit betekent dat gemiddeld 20 minuten zouden verlopen na de eerste presentatie van een patrooncombinatie, voordat de periode van hypoxie zou kunnen beginnen.

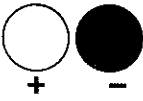

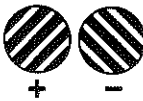
FASE	PATROONCOMBINATIE	AANTAL PRESENTATIES PER DAG	CRITERIUM IN % JUISTE KEUZEN
1.		100	1 dag \geq 90%
2.		100	1 dag \geq 90%
3.		50 gevolgd door 10 minuten hypoxie	1 dag \geq 90%




Fig. 18: *Patroondiscrimineren volgens protocol E. Tijdens fase 3 werd de training van dertien konijnen iedere dag gevolgd door 10 minuten hypobare hypoxie (Pomg. = 190 mm Hg). Ter controle werden elf konijnen volgens protocol E getraind zonder aan hypoxie te worden blootgesteld. Het beloonde patroon wordt gerepresenteerd door +. Dit werd in willekeurige volgorde op het linker- of het rechter luik geprojecteerd.*

Uit de literatuur blijkt dat er zeer waarschijnlijk een korte periode is direct na een discriminatietraining, waarin een retrograde amnesie kan worden opgewekt. Thompson en Pryer (132) maakten gebruik van hypobare hypoxie en de rat als proefdier. Zij vermeldden een tijdsduur van 2 tot ten hoogste 15 minuten waarbinnen de hypoxieperiode moest plaatsvinden om een verminderde leerprestatie tot gevolg te hebben. Flohr (41) liet ratten gedurende 5 minuten in een ruimte verblijven met 8% of 5.5% zuurstof in stikstof. Hij concludeerde dat deze behandeling succesvol was met betrekking tot het veroorzaken van een retrograde amnesie, mits er tenminste 5 minuten en ten hoogste 7 uur verlopen waren na de training. In beide experimenten werd de consolidatie van het geheugenspoor 24 uur later getest.

Hiervan uitgaande lijkt het aannemelijk dat konijnen zich gemiddeld 10 minuten na het begin van de patroondiscriminatietraining in een voor hypoxie gevoelige toestand bevinden. In hoofdstuk 3 is aannemelijk gemaakt dat de consolidatie van het geheugenspoor voor een patroondiscriminatie geleidelijk verloopt, parallel aan het stijgen van het percentage juiste keuzen. Tijdens fase 3 van protocol E werden 50 presentaties per dag gegeven van de patrooncombinatie 45°/135°. Het criterium voor de consolidatie van het geheugenspoor was 90% of meer juiste keuzen. Iedere dag werden dertien konijnen direct na afloop van de vijftigste presentatie gedurende 10 minuten in de onderdruktank geplaatst. Voor het verkrijgen van controlegegevens doorliepen elf andere konijnen protocol E, maar zonder hypobare hypoxie gedurende fase 3.

8.2. Resultaten

De dertien konijnen van de hypoxie-groep doorstonden het verblijf van 10 minuten in de onderdruktank tijdens fase 3 op meerdere dagen achter elkaar. Alle dieren vertoonden vergelijkbare verschijnselen tijdens de onderdrukperiode (pag. 63). In Tabel 9 zijn van beide groepen de gemiddelde waarden weergegeven van aantal dagen-, aantal presentaties- en aantal onjuiste keuzen tot en met het bereiken van het criterium. De verschillen tussen beide groepen bereikten in geen der 3 fasen een significant niveau (Wilcoxon: $\alpha > 0.05$).

	FASE 1.			FASE 2.			FASE 3.		
			c			c			c
Hypoxie- groep n = 13	3.7	369	91	3.1	308	77	5.5	277	91
Controle- groep n = 11	4.8	482	139	2.7	273	67	6.8	341	108

Tabel 9: *Patroondiscrimineren van twee groepen konijnen die volgens protocol E werden getraind. Tijdens fase 3 werd de training van dertien konijnen iedere dag gevolgd door 10 minuten hypoxie.*

a = gemiddeld aantal dagen tot en met criterium

b = gemiddeld aantal presentaties tot en met criterium

c = gemiddeld aantal onjuiste keuzen tot en met criterium

Het is opvallend dat de konijnen uit de hypoxiegroep het criterium in fase 3 bereikten met gemiddeld evenveel presentaties en onjuiste keuzen als in fase 2 (rangtekentoets: $n = 13$, $V = +17$, $\alpha > 0.1$). De konijnen uit de controlegroep hadden voor fase 3 wel een significant groter aantal onjuiste keuzen nodig dan voor fase 2 (rangtekentoets: $n = 11$, $V = +54$, $0.02 < \alpha < 0.05$). Vergelijking met de gemiddelde waarden van fase 3 van protocol B (pag. 39) laat zien dat de consolidatie van het geheugenspoor onafhankelijk van het aantal dagen verliep. Het criterium van de $45^\circ/135^\circ$ discriminatie werd met ongeveer evenveel presentaties en onjuiste keuzen bereikt of er 50 dan wel 100 presentaties per dag werden aangeboden.

In Fig. 19 zijn traincurves afgebeeld van drie konijnen uit de hypoxiegroep. Voor een nadere illustratie van de invloed van hypoxie na iedere traindag zijn in Tabel 10 de individuele getallen van fase 3 weergegeven van zowel de hypoxiegroep als de controlegroep. Het verschil tussen de aantallen onjuiste keuzen is niet significant (Wilcoxon: $n_1 = 11$, $n_2 = 13$, $n = 24$, $S = 150$, $\alpha > 0.05$).

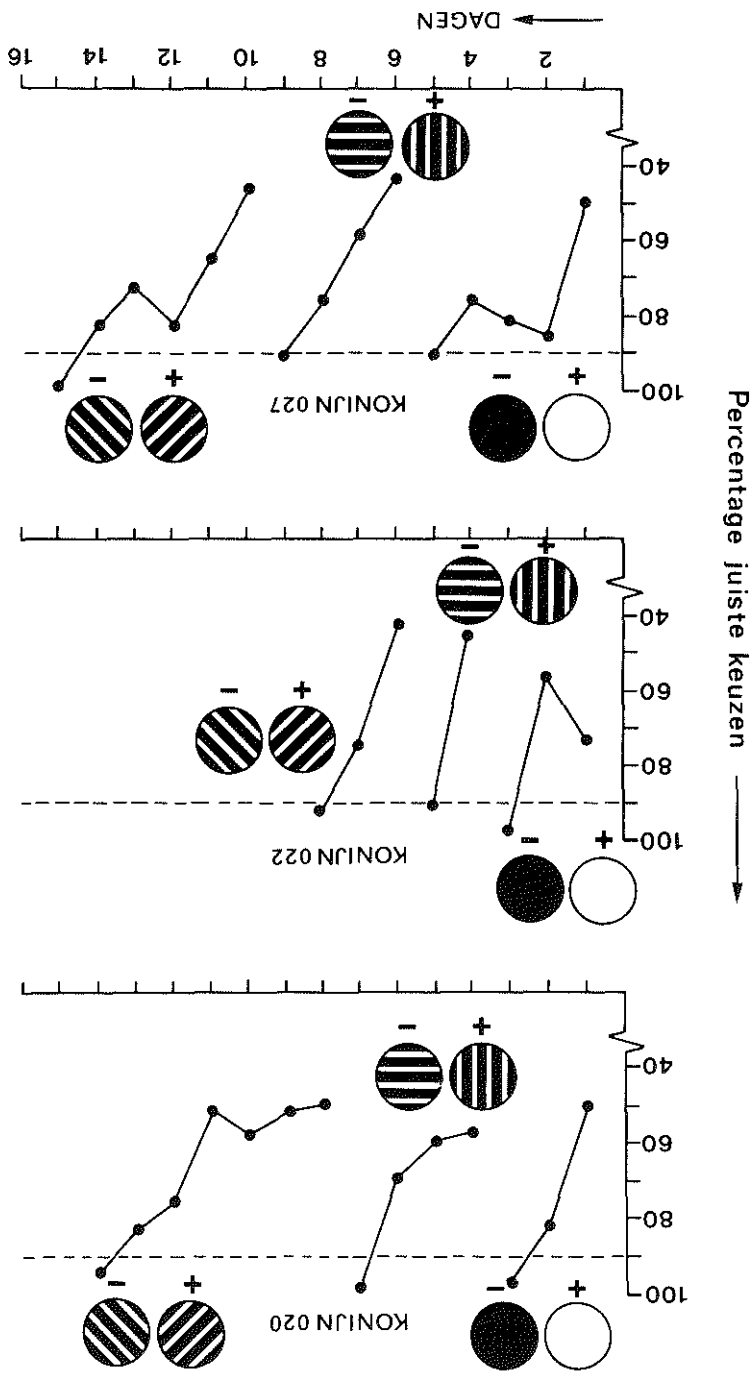


Fig. 19: Drie voorbeelden van de training volgens protocol E. Tijdens fase 3 ondergingen de konijnen een periode van hypobare hypoxie direct na iedere serie van vijftig presentaties.

HYPOXIE-
GROEP

FASE 3.



NO:

a

b

c

15

3

150

44

16

9

450

157

19

3

150

43

20

7

350

117

22

3

150

45

24

3

150

128

26

6

300

101

27

6

300

76

29

3

150

35

40

6

300

78

42

7

350

138

50

8

400

149

54

8

400

166

 \bar{x}

5.5

277

91

CONTROLE-
GROEP

FASE 3.



NO:

a

b

c

17

6

300

108

18

6

300

95

30

10

500

150

43

7

350

93

44

8

400

121

45

12

600

236

46

4

200

64

47

4

200

36

53

6

300

86

57

7

350

109

58

5

250

85

 \bar{x}

6.8

341

108

Tabel 10: *Individuele getallen van fase 3 van twee groepen konijnen die volgens protocol E werden getraind. Tijdens deze fase werd de training van dertien konijnen iedere dag gevolgd door 10 minuten hypobare hypoxie.*

a = aantal dagen tot en met criterium

b = aantal presentaties tot en met criterium

c = aantal onjuiste keuzen tot en met criterium

De gemiddelde tijd die de konijnen uit de hypoxiegroep nodig hadden voor 50 presentaties tijdens fase 3, steeg van 8.1 minuten op dag 1 naar 11.4 minuten op dag 3. Parallel hieraan steeg het percentage juiste keuzen van 50 naar 74. Dit betekende dat er op dag 3 meer presentaties werden beloond. Een beloonde presentatie duurt in het algemeen ongeveer 5 seconden langer dan een niet-beloonde. De stijging in gemiddelde traintijd van 2.3 minuten valt dus te verklaren uit de stijging van het percentage juiste keuzen. Bovendien dient aangetekend te worden dat de computer de traintijd per konijn slechts in hele minuten registreert, zodat de gegeven waarden een benadering zijn van de werkelijke traintijden.

8.3. Conclusie

In het bovenstaande experiment werd de consolidatie van het geheugenspoor bestudeerd bij twee groepen konijnen. Gedurende de 45°/135° discriminatie werden per dag 50 presentaties aangeboden. Hierdoor was het mogelijk de hypoxiegroep een periode van hypobare hypoxie te laten ondergaan die gemiddeld 10 minuten na afloop van iedere patroondiscriminatie training begon. De duur van de onderdrukperiode was 10 minuten; het drukniveau was 190 mm Hg.

Hypobare hypoxie veroorzaakte onder deze omstandigheden geen retrograde amnesie voor de 45°/135° patroondiscriminatie taak, want de consolidatie van het geheugenspoor verliep in beide groepen met evenveel presentaties en een vergelijkbaar aantal onjuiste keuzen (Tabel 10, pag. 71).

Frieder en Allweis (43, 44, 45) gebruikten een proefopzet, waarin ratten leerden elektrische schokken te vermijden. Nadat het criterium van dit leerproces was bereikt, werd op verschillende tijden hierna de geheugenfunctie voor deze training getest. Onder controle-omstandigheden bleven de ratten zeer goed de elektrische schokken vermijden. Indien er binnen 10 minuten na de oorspronkelijke training een kortdurende cerebrale hypoxie werd opgewekt door inademing van 2% O₂ in N₂, dan ontstond een retrograde amnesie. Deze amnesie was alleen aan te tonen tijdens hertraining 30-180 minuten na de oorspronkelijke training. Op langere termijn (>180 min) verdween het effect van hypoxie spontaan!

Deze en andere interferenties met de geheugenvorming deden Frieder en Allweis een model postuleren waarin de geheugenvorming een viertal fasen doorloopt. Deze fasen zorgen op verschillende tijden na de training voor de geheugenfunctie. Daarbij wordt de opvolgende fase waarschijnlijk gevormd op basis van cerebrale processen die direct na de training zijn begonnen en die niet afhankelijk zijn van de voorgaande fase. Hypoxie kan interfereren met die fase die 30-180 minuten na de training voor de geheugenfunctie zorgt. Daarna komt het lange-termijn geheugen in werking, waarvan de consolidatie niet door hypoxie kan worden beïnvloed.

Andere observaties sluiten aan bij dit model van geheugenvorming (31, 41, 121). De hier beschreven resultaten aangaande het konijn maken duidelijk dat bij het konijn 24 uur na een hypoxieperiode geen retrograde amnesie was aan te tonen. Verdere experimenten met deze proefopzet en een kortere tijd tussen de trainingen zullen aanwijzingen kunnen geven of voor het konijn een soortgelijk model van geheugenvorming gevormd kan worden. In dit model is in ieder geval de fase die voor de geheugenfunctie op lange termijn (24 uur) zorgt, niet beïnvloedbaar door hypobare hypoxie.

DE INVLOED VAN HYPOBARE HYPOXIE OP HET VERLOOP VAN EEN AANSLUITENDE
ONBEKENDE DISCRIMINATIETRAINING

9.1. Inleiding

In voorgaande experimenten werd aangetoond dat hypobare hypoxie na afloop van een patroondiscriminatie training de consolidatie van het geheugenspoor niet vertraagde. Bovendien bleef het geheugenspoor na consolidatie gedurende lange tijd stabiel. In het navolgende experiment werd nagegaan of hypobare hypoxie enige invloed heeft op het consolidatieproces wanneer de hypoxie aan de patroondiscriminatie training voorafgaat. Om dit bereiken werd het leervermogen voor een onbekende discriminatietask getest direct na een verblijf van 10 minuten in de onderdruk-tank.

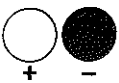


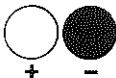


FASE	PATROONCOMBINATIE	AANTAL PRESENTATIES PER DAG	CRITERIUM IN % JUISTE KEUZEN
1.		100	1 dag \geq 90%
2.		100	1 dag \geq 90%
3.		50 voorafgegaan door 10 minuten hypoxie	1 dag \geq 90% maximaal 10 dagen

Fig. 20: Patroondiscrimineren volgens protocol F. Tijdens fase 3 werd de training van dertien konijnen iedere dag voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie (Pomg. = 190 mm Hg). Ter controle werden zestien konijnen volgens protocol F getraind zonder aan hypoxie te worden blootgesteld. De maximale duur van fase 3 was 10 dagen.

Daartoe werden dertig konijnen getraind volgens protocol F (Fig. 20). Veertien konijnen vormden de hypoxiegroep. Deze ondergingen 10 minuten hypobare hypoxie direct voorafgaande aan de 45°/135° discriminatie tijdens fase 3. Eén konijn overleefde de derde expositie aan hypobare hypoxie niet, zodat de uiteindelijke hypoxiegroep dertien konijnen bevatte. Ter controle werden de overige zestien konijnen tegelijkertijd getraind volgens protocol F, echter zonder hypoxieperioden. De maximale duur van de 45°/135° discriminatietraining bedroeg in protocol F 10 dagen.

9.2. Resultaten

De gemiddelde waarden van aantal dagen-, aantal presentaties- en aantal onjuiste keuzen tot en met het bereiken van het criterium zijn van beide groepen weergegeven in Tabel 11. In geen der drie fasen traden er significante verschillen op tussen hypoxie- en controlegroep. Hierbij dient wel te worden aangetekend dat in beide groepen drie konijnen tijdens fase 3 het criterium niet binnen 10 dagen bereikten. De gegevens van deze konijnen zijn wel opgenomen in Tabel 11.

	FASE 1.			FASE 2.			FASE 3.		
									
	a	b	c	a	b	c	a*	b*	c*
Hypoxie- groep n = 13	4.1	408	119	2.6	262	58	5.8	288	84
Controle- groep n = 16	4.8	481	136	3.3	331	72	5.4	272	83



Tabel 11: *Patroondiscrimineren van twee groepen konijnen die volgens protocol F werden getraind. Tijdens fase 3 werd de training van dertien konijnen iedere dag voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie. De maximale duur van fase 3 was 10 dagen. Van beide groepen bereikten drie konijnen het criterium niet binnen 10 dagen; de resultaten zijn wel opgenomen in de groepsgemiddelden (*).*

a = gemiddeld aantal dagen tot en met criterium

b = gemiddeld aantal presentaties tot en met criterium

c = gemiddeld aantal onjuiste keuzen tot en met criterium

In Tabel 12 zijn de individuele getallen weergegeven van fase 3 van protocol F. De konijnen die het criterium niet hadden bereikt na 500 presentaties, zijn aangeduid met een *. Wanneer de resultaten van deze dieren niet worden meeberekend zijn de gemiddelde waarden als volgt: de hypoxiegroep (n = 10) had gemiddeld 4.5 dagen met 225 presentaties nodig om het criterium te bereiken, waarbij gemiddeld 59 onjuiste keuzen werden gemaakt. Van de controlegroep (n = 13) zijn deze gecorrigeerde waarden 4.4 dagen met 219 presentaties 52 onjuiste keuzen. De verschillen tussen de gecorrigeerde waarden van beide groepen zijn evenmin significant.

HYPOXIE- GROEP				CONTROLE- GROEP			
FASE 3.				FASE 3.			
							
NO:	a	b	c	NO:	a	b	c
72*	10	500	137	07	2	100	11
73	5	250	54	12*	10	500	237
78	3	150	27	69	6	300	77
80	4	200	50	70	7	350	138
81	5	250	56	71	4	200	50
82	6	300	109	74	4	200	37
84	3	150	25	76*	10	500	210
85*	10	500	176	77	6	300	62
87*	10	500	182	83	4	200	47
96	5	250	61	86	5	250	42
99	3	150	32	88	4	200	45
100	8	400	127	93	4	200	45
102	3	150	50	94	4	200	46
				95	4	200	26
				97	3	150	50
				101*	10	500	207
\bar{x}	5.8	288	84	\bar{x}	5.4	272	83

Tabel 12: *Individuele getallen van fase 3 van twee groepen konijnen die volgens protocol F (pag. 75) werden getraind. Tijdens deze fase, die maximaal 10 dagen duurde, werd de training van dertien konijnen iedere dag voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie.*

a = aantal dagen tot en met criterium

b = aantal presentaties tot en met criterium

c = aantal onjuiste keuzen tot en met criterium

** = criterium niet binnen 10 dagen bereikt; de resultaten zijn wel opgenomen in de groepsgemiddelden.*

Tenslotte zijn in Tabel 13 het gemiddelde percentage juiste keuzen en de gemiddelde traintijd weergegeven van de eerste drie dagen van fase 3. Het is duidelijk dat zowel de uitgangswaarden van het percentage juiste keuzen op dag 1, als de stijging hierin op de volgende dagen, volkomen vergelijkbaar zijn. Een hypoxieperiode had dus geen invloed op de mate van consolidatie van het geheugenspoor wanneer het percentage juiste keuzen als maat hiervoor wordt gebruikt.

	DAG 1		DAG 2		DAG 3	
	a	b	a	b	a	b
Hypoxie- groep n = 13	55 ± 2	13.0	67 ± 3	11.4	77 ± 5	10.9
Controle- groep n = 16	58 ± 3	8.9	69 ± 4	9.4	74 ± 4	9.9

Tabel 13: Gemiddeld percentage juiste keuzen (a) en gemiddelde totale traintijd (b) op de eerste drie dagen van fase 3 van protocol F (pag. 75).

De gemiddelde totale traintijd verschilde echter wel tussen beide groepen. De hypoxiegroep gebruikte voor 50 presentaties op dag 1 gemiddeld 13.0 minuten met uiterste waarden van 9 tot 20 minuten. De controle-groep had voor 50 presentaties met een vergelijkbaar percentage juiste keuzen gemiddeld 8.9 minuten nodig met variaties van 7 tot 12 minuten. Analyse met de toets van Wilcoxon liet zien dat deze verschillen significant waren ($n_1 = 13$, $n_2 = 16$, $n = 29$, $S = 277$, $\alpha < 0.01$). Op dag 2 en dag 3 daalde de gemiddelde traintijd in de hypoxiegroep naar respectievelijk 11.6 minuten en 10.9 minuten. Ondanks een hoger percentage juiste keuzen waren de konijnen in staat de 50 presentaties sneller te volbrengen. Gezien het verloop van de gemiddelde traintijd van de controlegroep zou ook in de hypoxiegroep eerder een stijging van deze tijd zijnte verwachten (vergelijk pag. 71). De verschillen tussen beide groepen bleven significant op dag 2 en dag 3.

9.3. Conclusie

Gemiddeld kon in de hypoxiegroep 10 seconden na het openen van het deksel van de onderdruktank de eerste presentatie van de 45°/135° discriminatie worden aangeboden. Dat moment was tevens het beginpunt van de meting van de totale traintijd. Tien minuten hypobare hypoxie hadden wel invloed op de totale traintijd van een aansluitende onbekende patroondiscriminatietraining. Het percentage juiste keuzen na hypoxie was vergelijkbaar met de score onder controle-omstandigheden. Bovendien werden evenveel presentaties gebruikt om het criterium te bereiken en werden evenveel onjuiste keuzen gemaakt tijdens het leerproces.

Kennelijk veroorzaakte de periode van hypobare hypoxie op de eerste dag van fase 3 een verlenging van de gemiddelde traintijd. Uit observaties was reeds gebleken dat konijnen direct na afloop van de hypoxieperiode enkele malen met de kop schudden en verder stil bleven zitten, waarbij de afgenomen controle over o.a. houding geleidelijk terugkeerde (pag. 64). Het leek dat de konijnen tijdens deze herstelfase nog niet met de patroondiscriminatie begonnen. Wat hiervan de oorzaak was, was niet duidelijk. Op de volgende dagen was de herstelperiode na blootstelling aan hypobare hypoxie in ieder geval aanmerkelijk korter, wat tot uiting kwam in een daling van de gemiddelde traintijd. Hieruit valt af te leiden dat een herhaling van de hypobare hypoxieperiode minder sterke gevolgen had.

DE INVLOED VAN HYPOBARE HYPOXIE OP HET VERLOOP VAN EEN AANSLUITENDE BEKENDE DISCRIMINATIETRAINING

10.1. Inleiding

In het navolgende experiment werd nagegaan of hypoxie het vermogen kan beïnvloeden om een bekende patroondiscriminatietaak te verrichten. Uit het voorgaande experiment bleek dat het leerproces betreffende het onderscheid tussen twee onbekende patronen direct na 10 minuten hypobare hypoxie of onder controle-omstandigheden op identieke wijze verliep. Wel verstreek na de hypoxieperiode enige tijd voordat konijnen met de discriminatietraining begonnen. Om uit te sluiten dat deze latentietijd veroorzaakt werd door het feit dat de patrooncombinatie onbekend was, werd een dergelijk experiment gedaan nadat de consolidatie van het geheugenspoor was voltooid. In dit experiment werd nagegaan of er een latentietijd optrad, wanneer de hertraining om de dag werd voorafgegaan door hypobare hypoxie.

De patroondiscriminatietraining verliep volgens protocol G (Fig. 21). Zestien konijnen leerden tijdens fase 1 en fase 2.1 het onderscheid tussen respectievelijk licht/donker en verticaal/horizontaal met 100 presentaties per traintag. Als bekrachtiging van de laatste combinatie werd fase 2.2 toegevoegd, waarin de konijnen per traintag 50 presentaties moesten beëindigen binnen 40 minuten met een score van 90% of meer juiste keuzen. Vervolgens werd de hertraining tijdens fase 3 om de dag voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie ($p_{\text{omg.}} = 190 \text{ mm Hg}$). Voor het eigenlijke experiment werd met de nummering van de dagen begonnen op de dag waarop tijdens fase 2.1 het criterium werd bereikt. Daardoor konden alle konijnen vijf dagen later, op dag 6, worden blootgesteld aan hypobare hypoxie. Dit werd herhaald op de volgende even dagen, terwijl op de oneven dagen alleen de patroondiscriminatietraining werd herhaald.

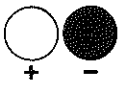



FASE	PATROONCOMBINATIE	AANTAL PRESENTATIES PER DAG	CRITERIUM IN % JUISTE KEUZEN
1.		100	1 dag \geq 90%
2.1.		100	1 dag \geq 90%
2.2.		50	4 dagen \geq 90%
3.		50 om de dag voor- afgegaan door 10 minuten hypoxie	dagelijks \geq 90%

Fig. 21: *Patroondiscrimineren volgens protocol G. Tijdens fase 3 werden zestien konijnen om de dag direct voorafgaande aan de training blootgesteld aan 10 minuten hypobare hypoxie ($p_{omg.} = 190$ mm Hg).*

De tijd welke nodig was voor het transport van konijnen uit de onderdruk-tank tot aan de patroondiscriminatieopstelling, bedroeg gemiddeld 10 seconden. Hierdoor was het mogelijk maximaal 40 seconden na het begin van de drukstijging (Fig. 17, pag. 63) met de eerste presentatie van de patrooncombinatie te beginnen. Het tijdstip waarop de sluiters van de dia-projector werd geopend, markeerde het begin van de patroondiscriminatie-training. Zoals eerder beschreven, traden er in de herstelfase na hypobare hypoxie soms onwillekeurige bewegingen op. Indien de training al zou zijn begonnen, zou hierdoor bij toeval één der luiken kunnen worden geopend. De aldus beëindigde presentatie zou in dit geval echter niet het begin van het patroondiscrimineren betekenen.

Om informatie te verkrijgen omtrent de duur van de herstelfase en het begin van het patroondiscrimineren werd de tijd (t_3) gemeten tussen het begin van de eerste presentatie en het einde van de derde juiste keuze. Dit laatste werd gemarkeerd door het verdwijnen van het diabeeld van de betreffende presentatie. Tijdens deze meting werd geregistreerd hoeveel onjuiste keuzen de konijnen maakten. Per traintag van 50 presentaties werden ook de totale traintijd en het percentage juiste keuzen vastgelegd.

10.2. Resultaten

De zestien konijnen hadden in fase 1 voor het bereiken van het criterium 4.1 dagen nodig met 414 presentaties. Daarin werden gemiddeld 109 onjuiste keuzen gemaakt. De verticaal/horizontaal discriminatietraining verliep niet significant sneller (rangtekentoets); hiervoor waren 2.9 dagen nodig met 293 presentaties. Het gemiddeld aantal onjuiste keuzen van fase 2.1 bedroeg 62. Dit is niet significant minder dan het aantal van fase 1 (rangtekentoets, $n = 14$, $V = 61$, $\alpha > 0.05$).

Vanaf dag 1, de dag waarop het criterium werd bereikt tijdens fase 2.1, werd de tijd t_3 gemeten die de konijnen nodig hadden voor het maken van de eerste drie juiste keuzen. De hypoxieperiodes, welke vanaf dag 6 om de dag aan de patroondiscriminatietraining voorafgingen, gaven identieke verschijnselen als in voorgaande experimenten. Op dag 6 moest de eerste expositie aan 190 mm Hg bij twee konijnen voortijdig worden afgebroken wegens het optreden van een ademstilstand. Eén van deze kon kon worden gereanimeerd, maar werd verder buiten het experiment gehouden.

De vijfde onderdrukperiode van konijn 135 moest op dag 14 eveneens worden onderbroken wegens een dreigende ademstilstand. Na succesvolle reanimatie werd de training alsnog gestart. Konijn 845 kon op dag 16 ten gevolge van een intercurrente ziekte niet meer worden blootgesteld aan hypobare hypoxie. Gedurende dit experiment konden dus drie van de vijftientachtig hypoxieperiodes niet worden voltooid. Wanneer de hypoxieperiode voortijdig moest worden afgebroken, dan had reanimatie slechts gedeeltelijk succes. In twee van de drie gevallen bleken uit de patroon-

discriminatie training niet langer betrouwbare gegevens te kunnen worden afgeleid. Bovendien was de mortaliteit na ademstilstand hoog. De mortaliteit van de eerste hypoxieperiode lag tussen de 5 en 10%. Na de eerste expositie overleefden alle konijnen de volgende vijf hypoxieperiodes.

Het percentage juiste keuzen van de veertien konijnen is van dag 1 tot en met dag 16 weergegeven in Tabel 14.

NO:	DAG:															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
126	95	98	100	100	100	100	100	100	100	94	100	100	100	100	100	100
127	100	98	98	100	100	98	100	90	98	90	100	92	100	98	100	82
128	94	98	100	100	100	92	100	98	98	100	96	100	100	98	100	100
130	100	100	100	98	100	98	100	98	100	94	94	100	100	100	100	98
132	100	100	98	98	96	100	100	100	98	100	100	100	100	100	100	100
135	96	100	100	98	96	98	100	98	96	94	100	96	98	94	98	82
137	98	98	100	100	100	100	100	98	98	98	100	100	100	100	100	100
143	100	100	100	98	100	98	100	100	100	100	98	100	100	100	100	100
144	92	98	100	100	98	100	100	100	100	100	98	100	100	100	100	100
145	100	100	98	100	100	98	100	100	100	94	96	100	100	100	100	100
830	80	88	92	98	90	98	98	96	94	98	100	100	100	100	100	98
843	98	100	94	96	96	96	100	100	100	98	94	94	96	96	100	100
845	98	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	98	98	100	--
846	100	100	100	100	100	100	88	100	100	98	100	100	100	100	100	100
\bar{x}	96	98	99	99	98	98	100	98	99	97	98	99	99	99	100	97
SE	1.5	0.8	0.7	0.4	0.8	0.6	0.1	1.0	0.5	0.9	0.6	0.7	0.3	0.6	0.1	1.9

Tabel 14: Percentage juiste keuzen bij 50 presentaties per dag van de patroondiscriminatie verticaal/horizontaal. De training werd op dag 6, 8, 10 enz. voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie.

Hieruit blijkt dat de gemiddelde score op deze dagen varieerde van 97 tot 99%, welk percentage niet werd beïnvloed door perioden van hypobare hypoxie, die aan de training voorafgingen. Gemiddeld werden er op dag 6 1.7 onjuiste keuzen gemaakt. Dit betekende dat na hertraining van de verticaal/horizontaal discriminatie direct het criterium werd bereikt. Ondanks de eerste blootstelling aan hypobare hypoxie bleef het geheugenspoor intact, hetgeen valt af te leiden uit de retentie-index van 0.03. Deze waarde werd verkregen door het aantal onjuiste keuzen tot en met het bereiken van het criterium van de hertraining te delen door het

aantal van de oorspronkelijke training. Dit betekent dat na hypoxie slechts 0.03 maal zoveel onjuiste keuzen werden gemaakt om het criterium van dezelfde discriminatietask te bereiken.

De t_3 is in Tabel 15 weergegeven in seconden. Op de eerste vijf dagen na het bereiken van het criterium bleek deze gemiddeld 33 seconden te zijn. Direct na de eerste periode van hypobare hypoxie op dag 6 trad er een significante verlenging van de t_3 op in vergelijking met de uitgangswaarde (rangtekentoets: $n = 14$, $V = +105$, $\alpha < 0.01$). Op de volgende even dagen nam de gemiddelde t_3 af van 543 seconden op dag 6 tot 92 seconden op dag 16. Deze laatste tijd was nog steeds significant langer dan de controlegegevens van dag 15 (rangtekentoets: $n = 13$, $V = +91$, $\alpha < 0.01$).

NO:	DAG:															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
126	29	29	30	38	37	1681	29	135	29	73	31	174	32	62	32	118
127	30	29	29	29	28	400	32	55	30	46	31	183	31	91	30	36
128	36	28	34	30	35	123	42	63	49	177	60	153	83	63	37	75
130	29	30	30	40	30	397	37	249	30	131	33	221	30	58	34	60
132	30	29	42	28	29	1556	33	459	28	295	29	222	33	219	33	150
135	29	39	28	28	48	369	28	144	43	261	34	118	30	373	31	60
137	28	29	32	32	29	468	95	182	35	183	42	107	37	133	38	205
143	29	29	31	29	29	297	74	146	34	54	36	59	29	42	31	96
144	37	30	29	34	77	494	40	208	30	170	33	525	31	161	30	100
145	32	33	33	30	47	213	31	236	31	147	34	78	30	80	32	124
830	35	36	36	35	39	293	36	117	33	123	35	58	35	44	34	67
843	34	33	32	35	36	481	33	226	34	151	32	134	33	87	33	50
845	37	32	35	32	33	493	38	221	36	138	31	121	40	60	33	--
846	33	33	35	34	33	337	34	45	35	83	39	56	32	45	34	53
\bar{x}	32	31	33	32	38	543	37	178	34	145	35	156	36	108	33	92
SE	1	1	1	1	4	125	3	28	2	19	2	32	4	25	1	13

Tabel 15: Tijd t_3 in seconden tussen het begin van de patroondiscriminatie en het einde van de derde juiste keuze bij 50 presentaties per dag van de combinatie verticaal/horizontaal. De training werd op dag 6, 8, 10 enz. voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie.

Zoals uit Tabel 16 blijkt, nam de t_3 al na de tweede hypoxieperiode op dag 8 af tot gemiddeld 178 seconden. De konijnen herstelden significant sneller van deze tweede blootstelling aan hypoxie (rangtekentoets: $n = 14$, $V = -103$, $\alpha < 0.01$). Hoewel de t_3 na de volgende hypoxieperioden bleef afnemen trad nergens een dergelijke significante vermindering op. Dat op dag 6 de gemiddelde t_3 van ruim 9 minuten niet werd veroorzaakt door het maken van veel onjuiste keuzen direct na de hypoxieperiode moge blijken uit Tabel 16. Hierin is weergegeven hoeveel onjuiste keuzen de konijnen maakten voordat de eerste drie juiste keuzen waren beëindigd. Dit aantal was zo gering dat hierdoor geen significante verlenging optrad van de t_3 . Bovendien werden voor drie tot vijf presentaties vergelijkbare waarden van de t_3 gemeten.

NO:	DAG:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
126											1						
127									2		1		1			1	
128					1		1	1				1	1			1	
130							1					1					
132																	
135								1	1	1						2	
137																	
143																	
144																	
145											1						
830																	
843																	
845															1		
846													1				

Tabel 16: Aantal onjuiste keuzen tijdens de t_3 bepaling bij 50 presentaties per dag van de patrooncombinatie verticaal/horizontaal. De training werd op de dagen 6, 8, 10 enz. voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie.

Tenslotte werd de gemiddelde totale traintijd berekend. Deze bleek, evenals de t_3 , significant langer te zijn en te blijven na hypobare hypoxie (Tabel 17). Om na te gaan of de gehele training op deze dagen langzamer verliep werd de totale traintijd verminderd met de t_3 . Hierdoor werd een indruk verkregen omtrent de tijd die nodig was om de resterende 45 tot 47 presentaties te beëindigen. Deze zogenaamde werkelijke train-

tijd vertoonde geen significante verschillen tussen de dagen 6 tot 16 (Tabel 17). Dit betekende dat wanneer de konijnen eenmaal met het patroondiscrimineren waren begonnen, zij vijftig presentaties in eenzelfde tempo afwerkten. Dit tempo werd niet beïnvloed door hypobare hypoxie direct voor de training. Alle voedselkorrels die na een juiste keuze konden worden gepakt, werden ook werkelijk opgegeten. Na het begin van de training waren er geen aanwijzingen te vinden voor een afkeer van de voedselkorrels als reden voor de latentietijd. In Fig. 22 is tenslotte een overzicht gegeven van de relevante gegevens uit dit experiment.

Dag	1	2	3	4	5	6	7	8
Totale traintijd	10.3	10.0	10.0	10.2	10.2	19.2	10.9	12.6
t_3	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	9.1	0.6	3.0
Werkelijke traintijd	9.8	9.5	9.5	9.7	9.6	10.1	10.3	9.6
Dag	9	10	11	12	13	14	15	16
Totale traintijd	10.9	12.3	10.9	12.2	10.7	12.0	9.8	10.8
t_3	0.6	2.4	0.6	2.6	0.6	1.8	0.6	1.5
Werkelijke traintijd	10.3	9.9	10.3	9.6	10.1	10.2	9.2	9.3

Tabel 17: Gemiddelde werkelijke traintijd in minuten nadat de derde juiste keuze is gemaakt bij 50 presentaties per dag van de patrooncombinatie verticaal/horizontaal. De training werd op de dagen 6, 8, 10 enz. voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie.

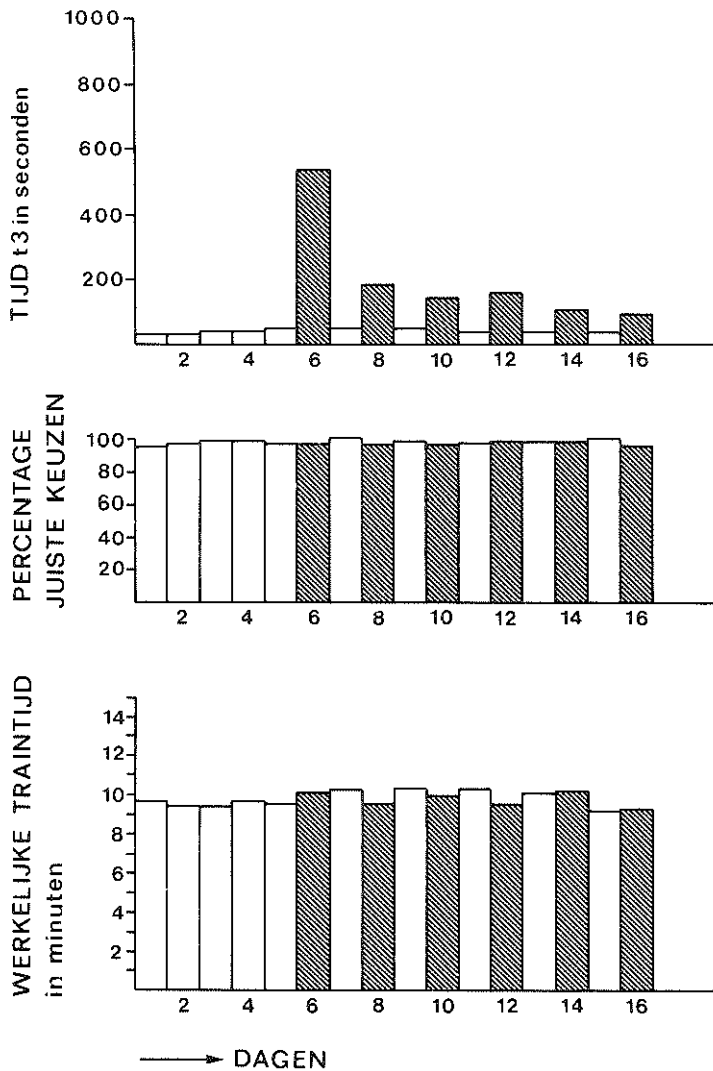


Fig. 22: Gemiddelde waarden van t_3 , percentage juiste keuzen en werkelijke traintijd van veertien konijnen, die volgens protocol G werden getraind. De gearceerde kolommen geven de dagen aan waarop de training werd voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie (Pomg. = 190 mm Hg). Dag 1 is de eerste dag waarop het criterium van 90% of meer juiste keuzen werd bereikt van de patrooncombinatie verticaal/horizontaal.

10.3. Invloed van de proefomstandigheden

Het zou mogelijk zijn dat de hiervoor beschreven stijging van de t_3 na 10 minuten hypobare hypoxie toe te schrijven is aan de gewijzigde "behandeling" van de konijnen in vergelijking met de controledagen (Fig. 22, pag. 88). Daarom werden veertien andere konijnen eveneens volgens protocol G (Fig. 21, pag. 82) getraind, echter met een belangrijke wijziging. Nu werd de druk in de onderdruktank gedurende 10 minuten op 760 mm Hg gehouden door direct lucht in de tank te laten stromen buiten het inlaatventiel om (Fig. 16, pag. 62). De overige proefomstandigheden waren identiek. Na vijf dagen getraind te zijn boven het criterium van de verticaal/horizontaal discriminatie verbleven de konijnen op dag 6 eerst 10 minuten in de onderdruktank ($p_{\text{omg.}} = 760$ mm Hg) voordat met de hertraining werd begonnen.

dag	1	2	3	4	5	6	7
t_3 in seconden	35	35	34	35	35	36	33
percentage juiste keuzen	97	97	98	99	99	99	99
werkelijke traintijd in minuten	9.8	9.7	9.7	9.1	9.5	9.4	9.4

Tabel 18: Patroondiscriminatiegegevens van veertien konijnen die werden getraind volgens protocol G (pag. 82). Op dag 6 verbleven ze direct voorafgaande aan de training gedurende 10 minuten in de onderdruktank waarin een druk heerste van 760 mm Hg.

Zoals uit Tabel 18 blijkt, had het verblijf in de onderdruktank op zich geen invloed op de t_3 . Deze was 36 seconden, hetgeen significant minder is dan 543 seconden op dag 6 (Tabel 15) na de eerste maal hypobare hypoxie (Wilcoxon: $n_1 = 14$, $n_2 = 14$, $n = 28$, $S = 301$, $\alpha < 0.01$). Het drukniveau bepaalde dus de verlenging van de t_3 op dag 6 (Tabel 15, pag. 85) terwijl de overige omstandigheden op de gemeten waarden geen invloed hadden. Daar er op dag 6 in dit controle-experiment geen veranderingen optraden ten opzichte van dag 5 of dag 7 werd het experiment na dag 7 beëindigd.

10.4. Conclusie

Direct na een verblijf van 10 minuten in de onderdruktank, waarin een druk heerste van 190 mm Hg, waren konijnen gedurende enige tijd niet in staat een bekende patroondiscriminatietaak te verrichten. Gedurende deze herstelperiode werd niet gereageerd op de aangeboden patrooncombinatie. Nadat de herstelperiode eenmaal voorbij was, verliep de training op identieke wijze als zonder voorafgaande hypobare hypoxie. Dit valt af te leiden uit een vergelijkbaar aantal onjuiste keuzen in het begin van de discriminatietraining (Tabel 16, pag. 86), een onveranderd percentage juiste keuzen (Tabel 14, pag. 84) en een vergelijkbare werkelijke traintijd (Tabel 17, pag. 87). Dit betekent dat een eenmaal in een geheugenspoor vastgelegde patrooncombinatie, na bekrachtiging, intact blijft en dat er van uitwissen door hypobare hypoxie geen sprake is.

De tijd t_3 die konijnen nodig hadden om drie juiste keuzen te maken in een bekende discriminatietraining, was gemiddeld 35 seconden. Na een eerste expositie aan hypobare hypoxie direct voor de training trad een zeer sterke verlenging op van deze tijd tot gemiddeld 543 seconden. Afgezien van het drukniveau in de onderdruktank hadden de overige proefomstandigheden geen invloed op het optreden van een latentietijd. Ook na herhaling van de hypoxieperioden bleef de t_3 significant langer dan onder controle-omstandigheden (Tabel 15, pag. 85 en Tabel 18, pag. 89).

De t_3 vertoonde echter wel een sterke vermindering van 543 seconden na de eerste hypoxieperiode tot 178 seconden na de tweede. Dit betekent dat de konijnen na de tweede hypoxieperiode veel sneller met het patroondiscrimineren begonnen. De t_3 was dus een goede maat voor de gevolgen van hypobare hypoxie op het discriminatiegedrag. Deze tijd geeft aan gedurende welke tijd een geconsolideerd geheugenspoor niet kan worden uitgelezen. Na het om de dag herhalen van de hypoxieperioden verminderde de t_3 geleidelijk, echter zonder een significante daling als welke optrad tussen de eerste en tweede blootstelling aan hypobare hypoxie. Deze significante daling (Tabel 15, pag. 85, Fig. 22, pag. 88) betekent dat er een snelle aanpassing optrad aan de omstandigheden in de onderdruktank.

Uit de gegevens valt echter ten eerste niet af te leiden of de latentietijd van primair cerebrale origine was. Indien immers primair de cardiale functie zou verminderen ten gevolge van de hypobare hypoxie, dan kunnen cerebrale functiestoornissen secundair hieraan optreden. Dit is zeker mogelijk, want uit de literatuur is bekend dat konijnen een bradycardie vertonen tijdens hypoxie (10, 11, 33, 78). Het patroon van de bradycardie na hypoxie hangt af van de leeftijd van de konijnen. Op volwassen leeftijd treedt er tijdens hypoxie na een tiental seconden een abrupte daling op van de hartfrequentie. Na doorsnijding van de beide N. Vagi is deze reactie veel minder sterk. Ook de afferenten van chemore- en baroreceptoren in de sinus caroticus spelen een rol in het optreden van de bradycardie (78). Op de afdeling Fysiologie I vond J.H. Reuter dat konijnen gedurende een periode van 10 minuten in de onderdruktank bij een druk van 190 mm Hg een zeer duidelijke bradycardie vertoonden (nog niet gepubliceerd experiment).

Een tweede punt dat onduidelijk is, is of de snelle adaptatie centraal dan wel perifeer plaatsvond. Uit de voorlopige gegevens van J.H. Reuter bleek, dat de door hem geregistreeerde bradycardie tijdens de tweede hypoxieperiode sterk was verminderd en na de derde periode nog verder afnam. De meest voor de hand liggende verklaring voor de eerder beschreven afname van de t_3 lijkt dus een snelle adaptatie op cardiaal niveau te zijn in plaats van een primair cerebraal aanpassingsmechanisme.

Als model voor de farmacologische bescherming van cerebrale functies tegen de gevolgen van hypoxie dient met het voorgaande zeker rekening gehouden te worden. Immers een stof die de hartspier beschermt tegen hypoxie, respectievelijk die aangrijpt op het neuronale mechanisme, dat de bradycardie mede veroorzaakt, zal secundair ook de cerebrale verschijnselen van hypoxie tegengaan zonder noodzakelijkerwijs de neuronale structuren zelf te beschermen.

DEEL 2

SMAAKNEOFOBIE EN SMAAKAVERSIE

INLEIDING EN VRAAGSTELLINGEN

In het tweede deel van het proefschrift zal de consolidatie en stabiliteit van het geheugenspoor van een ander type leerproces worden besproken. De beschreven leerprocessen zijn die welke optreden na contact met onbekende smaakstimuli. Als uitgangspunt werd een modificatie gekozen van een door Buresova en Bures beschreven experiment bij ratten (24). De essentie hiervan is weergegeven in Fig. 23. De dieren kregen gedurende 15 minuten per dag de gelegenheid om te drinken. Voorafgaande aan het experiment was slechts kraanwater te drinken gegeven. Ook op de eerste twee dagen was dit de vloeistof die werd aangeboden. Op dag 3 werd onder identieke omstandigheden in plaats van water appelsap geïntroduceerd en dit werd op dag 5 herhaald. Op de tussenliggende dagen kregen de ratten weer kraanwater te drinken. De gemiddelde vochtopname per dag, weergegeven in Fig. 23, verliep volgens een zeer karakteristiek patroon.

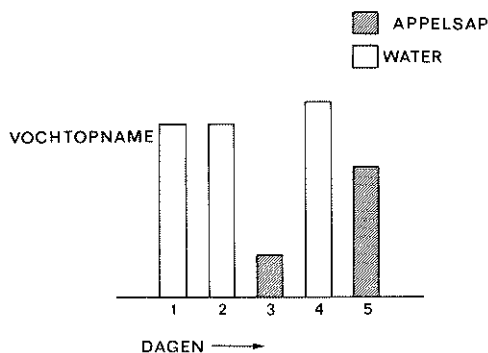


Fig. 23: Gemiddelde vochtopname van een groep ratten die gedurende een beperkte periode per 24 uur water konden drinken. Het uitgangsniveau hiervan is 10 ml en is weergegeven op dag 1 en dag 2. Introductie van een onbekende smaakstimulus op dag 3 veroorzaakte een neofobische reactie, welke grotendeels was uitgedoofd op dag 5. Ontleend aan Buresova en Bures (24).

Allereerst daalde de gemiddelde vochtopname na introductie van de onbekende smaakstimulus tot ongeveer 30% van het uitgangsniveau. Dit verschijnsel staat in de literatuur bekend als neofobie. Zeer vele diersoorten vertonen een neofobische reactie ten opzichte van zeer verschillende smaakstimuli (55). Indien na het eten of drinken van een onbekende smaakstimulus geen nadelige gevolgen optreden, dan verdwijnt de neofobie (47). Dit gewenningsproces valt in Fig. 23 af te leiden uit de verdubbeling van de vochtopname op dag 5 in vergelijking tot dag 3. Men zou kunnen zeggen dat de ratten hebben geleerd dat appelsap niet gekoppeld was aan nadelige gevolgen (74).

Indien wel nadelige gevolgen optreden na een eerste contact met een onbekende smaakstimulus dan verdwijnt de neofobie veel minder snel of zelfs geheel niet. Vele diersoorten blijven zo'n smaakstimulus permanent vermijden: er is een zogenaamde smaakaversie opgetreden (96). Dit kan bijvoorbeeld worden bereikt door aan ratten na afloop van het drinken van appelsap een injectie met apomorphine toe te dienen.

Het ontstaan van een smaakaversie dient te worden onderscheiden van het door Buresova en Bures beschreven optreden van retrograde amnesie. Deze onderzoekers lieten ratten na afloop van de drinkperiode op dag 3 (Fig. 23) verschillende manipulaties ondergaan, waarvan bekend was dat deze in andere situaties een retrograde amnesie kunnen veroorzaken. Deze manipulaties, zoals bijvoorbeeld het kunstmatig opwekken van een insult, hadden op zich geen smaakaversie tot gevolg. Werd zo'n insult toegediend na de eerste presentatie van appelsap dan bleef de consumptie op de tweede dag verlaagd. Men zou kunnen zeggen: de dieren waren vergeten dat appelsap al eens eerder werd gedronken en dat daarbij geen nadelige gevolgen waren opgetreden.

De voorgaande gegevens deden de vraag rijzen of hypobare hypoxie het verdwijnen van neofobie zou kunnen tegengaan. Hierbij dient te worden aangekend dat op het gebied van smaakneofobie en smaakaversie nauwelijks gegevens van het konijn beschikbaar zijn. Voor de experimenten bij het konijn werd een drinkschema gebruikt dat veel leek op het door Buresova

en Bures beschreven schema (24), alleen met dit verschil dat de vocht-opname van de konijnen gedurende meerdere dagen achtereenvolgend werd geregistreerd. Het bovenstaande leidde tot de vraagstellingen V t/m IX. Hierin zal, in navolging van de vraagstellingen I t/m IV, die betrekking hadden op het patroondiscrimineren (pag. 18), de consolidatie en stabiliteit van het neofobieproces worden behandeld.

- V. Vertonen konijnen neofobie en zo ja, hoe verloopt het gewenningsproces aan de onbekende smaakstimulus? (Hoofdstuk 13 t/m 15).
- VI. Hoe is de stabiliteit van het geheugenspoor na het leren drinken van een onbekende smaakstimulus? (Hoofdstuk 16).
- VII. Wat is het patroon van de smaakaversiereactie bij konijnen? (Hoofdstukken 17 en 18).
- VIII. Kan hypobare hypoxie een retrograde amnesie veroorzaken voor een onbekende smaakstimulus? (Hoofdstuk 19).
- IX. Welke invloed heeft hypobare hypoxie op gedrag van konijnen tijdens een aansluitende drinkperiode? (Hoofdstuk 20).

DE REGISTRATIE VAN DE VOCHTOPNAME

12.1. Registratie in de verblijfskooien

Voor het meten van de dagelijkse vochtopname werden twee registratiemethoden gebruikt. Tijdens de eerste methode bleven de konijnen gedurende het gehele experiment in de verblijfskooien in de dierenstallen. In deze stallen werden de omstandigheden zoals temperatuur, vochtigheidsgraad en dag/nacht ritme zoveel mogelijk constant gehouden. Voedsel in de vorm van droge voedselkorrels (merk: Hope Farm Konijnevoer, no 6245) was ad libitum beschikbaar. Vocht werd in deze verblijfskooien in flessen van bruin glas aangeboden. Deze flessen werden afgesloten met een rubberen dop waarin een rechte metalen drinktuit zat met een diameter van 1.0 cm. De drinkopening in deze drinktuit had een diameter van 0.2 cm.

De drinkflessen werden gedurende de drinkperiode met de dop naar beneden in een houder aan de zijkant van de verblijfskooien geplaatst. De drinktuit maakte zo een hoek van 30° met de verticaal; de drinkopening bevond zich 10 cm boven de bodem van de verblijfskooien. Indien de dop goed gesloten was, liep er spontaan geen vloeistof uit de fles, terwijl een konijn wel makkelijk uit de fles kon drinken. De geconsumeerde hoeveelheid vloeistof werd bepaald door de flessen voor en na de drinkperiode te wegen.

12.2. De drinkopstelling

De tweede methode om de vochtopname te bepalen was het registreren hiervan in een speciale drinkopstelling (Fig. 24). Deze drinkopstelling bestaat uit een kunststof bak (50 x 35 x 26 cm) waarin een drinktuit op gelijke wijze is bevestigd als in de verblijfskooien. De drinktuit is via een soepele slang verbonden met een vloeistofreservoir dat geheel vrij beweeglijk is opgehangen aan een elektronische weegschaal (Presica, type 3510 D). Op deze wijze is de inhoud van dit reservoir continu te meten. Bovendien is het mogelijk om op ieder willekeurig tijdstip de aangegeven hoeveelheid vast te leggen met een printer (Presica, type ST 1).

Zo kan tijdens de drinkperiode de vochtopname continu worden vervolgd.

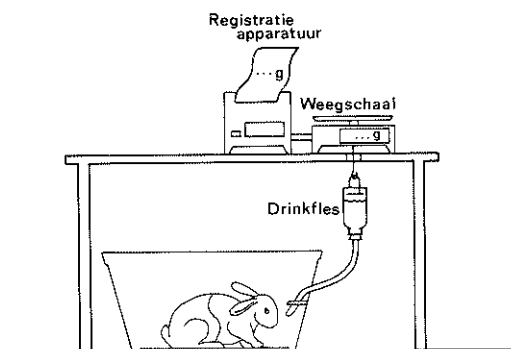


Fig. 24: De drinkopstelling. Door bepaling van het gewicht van een vrij beweegbaar vloeistofreservoir is continue registratie van de vochtopname mogelijk.

12.3. Gevolgen van een beperkt drinkschema

Cizek (28) onderzocht water- en voedselopname van volwassen konijnen gedurende enkele maanden achtereen. Hij vond dat volwassen konijnen in een ad libitum situatie, waarin water en voedsel onbeperkt aanwezig waren, een vochtopname hebben van ongeveer 200 ml per 24 uur. Tussen verschillende dieren van hetzelfde ras bestonden wel vrij grote verschillen, die niet gecorreleerd waren aan verschillen in lichaamsgewicht. De dagelijkse opname was echter per konijn zeer constant. Er bleek een lineaire relatie te bestaan tussen voedsel- en vochtopname. Tevens bleek dat schommelingen in het lichaamsgewicht correspondeerden met veranderingen in vocht- of voedselopname.

In het navolgende experiment werd nagegaan welke de gevolgen waren van een beperking van de tijd waarin gedronken kon worden. Daartoe werden van elf konijnen dagelijks op hetzelfde tijdstip lichaamsgewicht, voedsel- en vochtopname gemeten. Na twee dagen in de ad libitum situatie werd de vochtopname beperkt tot veertig minuten per dag, telkens op hetzelfde tijdstip. Aansluitend aan deze drinkperiode werd het lichaamsgewicht bepaald. De voedselkorrels bleven wel gedurende 24 uur bereikbaar

voor de konijnen. Het was opvallend dat alle elf konijnen pas na het drinken met eten begonnen. De gemiddelde voedselopname per dag daalde van 245 g in de ad libitum situatie tot ongeveer 105 g tijdens de waterbeperking. Na enige dagen trad hierin geen verandering meer op. Het gebruikte konijnevoer heeft een calorische waarde van 380-390 kcal (1590-1632 kJ) per 100 gram voedselkorrels.

In Fig. 25 zijn het gemiddelde lichaamsgewicht en de gemiddelde dagelijkse vochtopname weergegeven van elf konijnen. De gemiddelde vochtopname, gemeten gedurende de laatste twee dagen van de ad libitum situatie, bedroeg ongeveer 250 ml. Na een beperking van de drinktijd tot een periode van veertig minuten per dag daalde deze om zich vervolgens te stabiliseren rond een waarde van 105 ml. Parallel hieraan daalde het gemiddelde lichaamsgewicht van 2445 g naar 2355 g. Na drie dagen met een beperkte drinkperiode wijzigden beide waarden zich niet veel meer.

Alle konijnen vertoonden een patroon van gewichtsvaling en vermindering van de dagelijkse vochtopname. Echter de mate waarin deze beide waarden daalden, verschilde van konijn tot konijn. Om dit nader te illustreren, zijn in Tabel 19 de individuele waarden weergegeven die op de dagen 1, 2, 6, 7 en 8 werden gemeten.

12.4. Voorbereiding op registratie van de vochtopname

Uit Fig. 25 en Tabel 19 blijkt dat vochtopname en lichaamsgewicht van volwassen konijnen door een beperking van de dagelijkse drinktijd afnamen. Vergelijkbaar met de observaties van Cizek (28) ontstond na enige dagen een nieuw evenwicht. Per konijn traden daarna nog nauwelijks veranderingen op in de dagelijkse vochtopname.

Voorafgaande aan alle experimenten betreffende de vochtopname van konijnen werden op basis van deze gegevens 5 dagen van voorbereiding gebruikt. Op de eerste dag werden de drinkflessen verwijderd. Na 24 uur kregen de konijnen de gelegenheid gedurende een vastgestelde tijd kraanwater te drinken in de verblijfskooien of in de drinkopstelling. Dit werd de volgende 3 dagen op het hetzelfde tijdstip herhaald. Daarna konden de experimenten beginnen. De vochtopname op dag 1 werd in alle experimenten

als referentiewaarde gebruikt. Per konijn werd de wateropname van deze dag, die overeenkwam met dag 7 uit Fig. 25, op 100% gesteld en de vocht-opname op de volgende dagen werd hieraan gerelateerd.

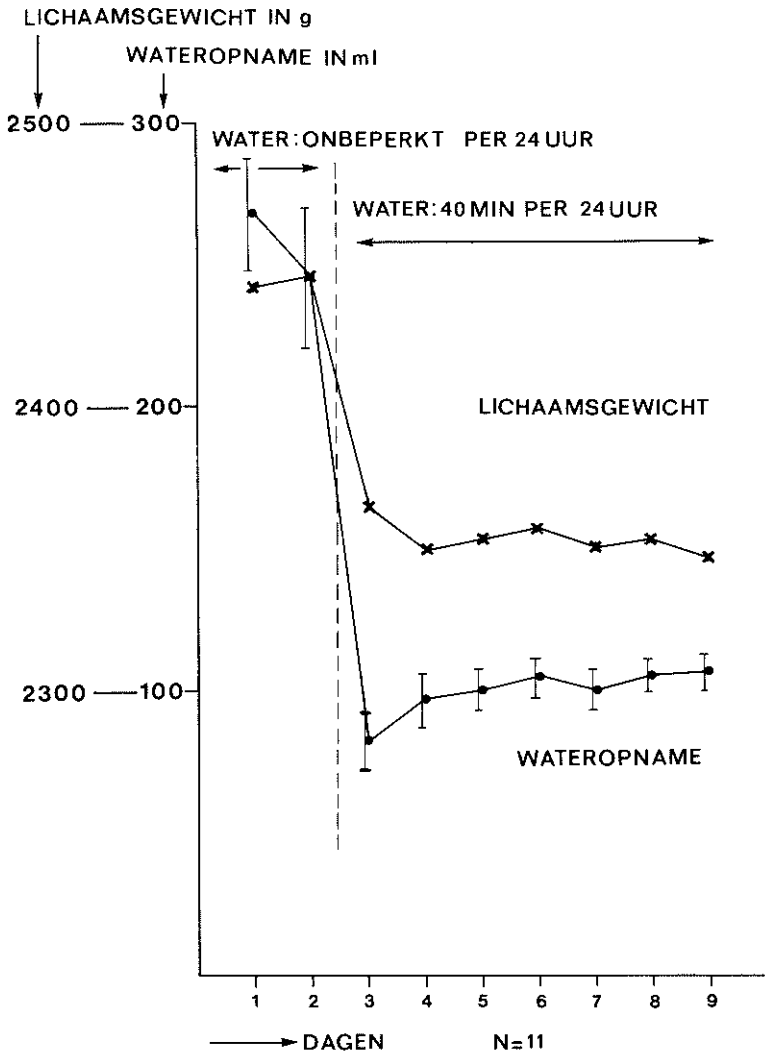


Fig. 25: Gevolgen van beperking van de drinktijd tot 40 minuten per dag op het gemiddelde lichaamsgewicht en vocht-opname van elf konijnen. Voedsel was onbeperkt beschikbaar gedurende het experiment.

WATER:ONBEPERKT PER DAG					WATER:40 MINUTEN PER DAG					
NO:	DAG 1		DAG 2		DAG 6		DAG 7		DAG 8	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
671	2800	310	2767	280	2735	120	2740	130	2735	140
677	2413	325	2390	260	2395	135	2390	135	2410	110
679	2663	245	2640	260	2475	75	2450	80	2430	100
681	2557	135	2567	160	2475	85	2440	70	2435	80
687	2583	355	2620	340	2537	135	2520	100	2535	135
689	2897	385	2877	335	2717	120	2700	105	2700	105
690	2400	175	2420	200	2293	80	2295	95	2285	90
691	2230	205	2210	185	2175	100	2160	85	2195	125
693	2240	330	2315	360	2195	130	2200	95	2185	95
695	2060	175	2050	170	1995	85	2020	110	2035	100
835	2027	215	2040	160	1937	90	1930	90	1945	110
\bar{x}	2442	260	2445	246	2357	105	2350	100	2355	105
SE	87	26	83	23	80	7	78	6	77	6

Tabel 19: Gevolgen van beperking van de drinktijd tot 40 minuten per 24 uur. Dag 7 was de vijfde dag van het beperkte drinkschema. Gedurende het experiment waren voedselkorrels ad libitum aanwezig.
a = lichaamsgewicht in g
b = wateropname in ml

INTRODUCTIE VAN EEN ONBEKENDE SMAAKSTIMULUS

13.1. Inleiding

Het aanbieden van een onbekende smaakstimulus aan dieren heeft een uniform reactiepatroon tot gevolg. In vergelijking met eenzelfde, bekend bestanddeel van het voedselpakket zal het consumptieniveau van het onbekende voedsel sterk afnemen. Domjan (37) veronderstelt dat dit komt, doordat dieren tijdens een eerste contact met een onbekende smaakstimulus de opname hiervan actief onderdrukken. Ze missen namelijk een mechanisme, waarmee ze de gevolgen kunnen voorzien van het nuttigen van een onbekend voedingsmiddel. Dit onderdrukkingsproces uit zich als "neofobie" ten opzichte van onbekende smaakstimuli.

Indien na het nuttigen van een onbekende smaakstimulus geen nadelige, lichamelijke gevolgen optreden, zal het consumptieniveau significant hoger zijn tijdens hernieuwd contact. Het verdwijnen van de neofobische reactie is een leerproces waardoor een onbekende smaakstimulus de betekenis krijgt van "veilig" (73) of tenminste van "niet geassocieerd met nadelige, lichamelijke gevolgen" (74). Dit betekent, dat er na het voor de eerste maal consumeren van een onbekende smaakstimulus een bepaalde tijd is, gedurende welke associatie met bijvoorbeeld vergiftigingsverschijnselen kan optreden. Hoe langer deze verschijnselen uitblijven, des te groter zal de stijging zijn van het consumptieniveau (55, 73, 96, 125).

De mate van neofobie ten opzichte van een onbekende smaakstimulus hangt af van de sterkte van de stimulus (37, 98, 125). Indien een vloeistof wordt gebruikt, blijkt er geen verband te bestaan tussen de absolute waarde van wateropname en bijvoorbeeld de appelsapopname (3). Gemiddelde waarden van absolute vochtopname kunnen dus een vertekend beeld geven. Archer en Sjöden (3) bepaalden daarom per dier de verhouding tussen de opname van een onbekende smaakstimulus en de wateropname van de voor-

gaande dag. In navolging hiervan werd de zogenaamde neofobie-index (NI) berekend voor de opname van een onbekende smaakstimulus. Deze werd verkregen door de vochtopname y op de eerste introductiedag te delen door de referentiewaarde x .

In formule:
$$NI = \frac{y}{x}$$

Op dag 1 werd van twaalf konijnen de wateropname in de verblijfskooien bepaald en per konijn op 100% gesteld. De duur van de drinkperiode was 40 minuten per dag. Vervolgens werd op dag 2 appelsap als onbekende smaakstimulus aangeboden. Teneinde bij iedere presentatie van appelsap een vergelijkbaar dorstniveau te verkrijgen, kregen konijnen op de on-even dagen kraanwater te drinken. Op de even dagen werd opnieuw appelsap gegeven. Beide vloeistoffen waren op kamertemperatuur en werden in flessen van bruin glas aangeboden.

13.2. Resultaten

In Fig. 26 is het verloop weergegeven van de gemiddelde waarden van appelsap- en wateropname. Op dag 2 was de gemiddelde vochtopname slechts 29% van de uitgangswaarde. Op de volgende even dagen, na het herhaald aanbieden, steeg de gemiddelde appelsapopname via 63% op dag 4 en 88% op dag 6 tot 100% op dag 8. Nadat de konijnen 3 maal appelsap hadden gedronken tijdens een drinkperiode van 40 minuten per dag was er geen sprake meer van neofobie. De gemiddelde wateropname varieerde op de on-even dagen na de introductie van appelsap tussen 106 en 119%.

In Fig. 27 zijn twee kenmerkende voorbeelden van het verloop van de vochtopname afgebeeld. In deze figuur is de vochtopname uitgedrukt in gram. Ondanks het verschil in de wateropname op dag 1, respectievelijk 73 g door konijn 909 en 103 g door konijn 935, hebben beide figuren een vergelijkbaar verloop. Konijn 909 bereikte met 73 g op dag 6 de uitgangswaarde, terwijl konijn 935 hier met 94 g op dag 10 nog net onder bleef.

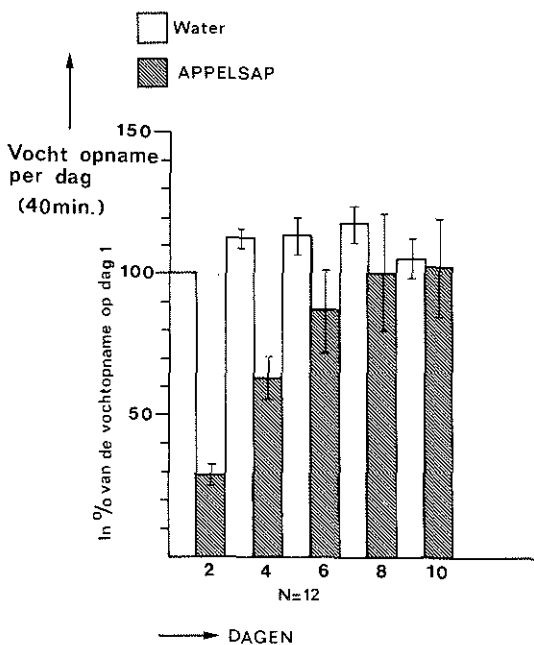


Fig. 26: Gemiddelde appelsap- en wateropname van twaalf konijnen die gedurende 40 minuten per dag konden drinken. De wateropname op dag 1 is per konijn als referentiewaarde gekozen. De groepsgemiddelden zijn berekend nadat de percentages per konijn waren vastgesteld.

Dat niet alle konijnen op dag 10 evenveel appelsap als water dronken moge blijken uit Tabel 20. Hierin staat per konijn de uitgangswaarde van de vochtopname. De hoeveelheden, die op de volgende dagen werden gedronken, werden aan deze waarde gerelateerd. Introductie van appelsap veroorzaakte een sterke, significante daling van de vochtopname (rangtekentoets: $n = 12$, $V = -78$, $\alpha < 0.01$). Dit leverde een neofobie-index op voor appelsap van 0.29. Dit betekent dat de konijnen tijdens een eerste contact met appelsap, gemiddeld slechts 29% van de referentiehoeveelheid dronken.

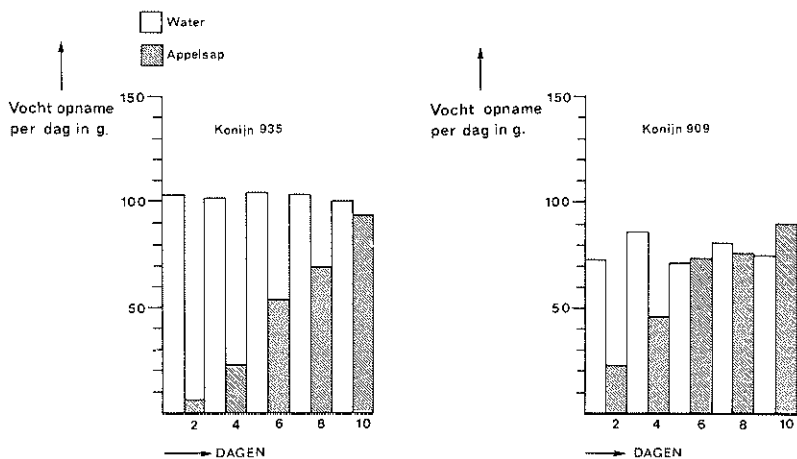


Fig. 27: Vochtopname in gram van twee konijnen die 40 minuten per dag konden drinken. Op de even dagen werd een onbekende smaakstimulus (appelsap) aangeboden. Dit leidde tot het optreden van neofobie. Deze neofobie nam, gezien de stijging van de appelsapopname, de volgende dagen af.

	DAG 1	DAG 2	DAG 3	DAG 4	DAG 5	DAG 6	DAG 7	DAG 8	DAG 9	DAG 10	
	g	%	%	%	%	%	%	%	%	%	
906 ^a	157	100	30	110	41	118	66	108	65	94	53
908	111	100	14	121	40	113	50	114	59	103	50
909	73	100	32	118	63	97	100	111	104	103	123
910	67	100	16	113	27	125	31	157	27	142	45
911	90	100	39	107	56	108	58	111	63	97	72
912	92	100	26	102	67	109	101	107	76	73	79
924	40	100	33	128	90	170	228	163	318	158	260
931	124	100	30	96	68	84	70	92	67	99	77
932	100	100	25	122	79	127	102	125	116	114	114
933	100	100	49	105	97	109	98	115	130	115	171
935	103	100	6	99	22	102	53	101	68	99	92
936	90	100	45	126	105	102	98	120	111	70	103
\bar{x}	96	100	29	112	63	113	88	119	100	106	103

Tabel 20: Vochtopname van twaalf konijnen in % van de wateropname op dag 1. Op de even dagen werd appelsap aangeboden als onbekende smaakstimulus, op de oneven dagen werd water gegeven. De duur van de drinkperiode was 40 minuten per dag.

Ook op dag 4 was de appelsapopname nog steeds significant verminderd in vergelijking met de wateropname op dag 1 (rangtekentoets: $n = 12$, $V = -74$, $\alpha < 0.01$). Hoewel op dag 6, dag 8 en dag 10 nog steeds een aantal konijnen beduidend minder appelsap dronken dan water zijn de verschillen voor de gehele groep vergeleken met de wateropname op dag 1 niet langer significant (rangtekentoets: $\alpha > 0.1$). De gemiddelde appelsapopname steeg van 29% op dag 2 naar 63% op dag 4. Per konijn berekend was dit een significante stijging (rangtekentoets: $n = 12$, $V = +78$, $\alpha < 0.01$). Ook de stijging op dag 6 was vergeleken met dag 4 significant (rangtekentoets: $n = 12$, $V = +68$, $\alpha < 0.01$). Gedurende deze twee dagen trad er dus duidelijk een vermindering van de neofobie op, totdat er op dag 6 geen significant verschil meer bestond met de wateropname op dag 1.

Uit analyse van de absolute hoeveelheden vloeistof die op dag 1 en dag 2 werden gedronken, bleek dat deze noch positief noch negatief gecorreleerd waren (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 12$, $R = 171.5$, $\alpha > 0.1$). Tevens werd nagegaan of de mate van neofobie een voorspellende waarde had voor de snelheid van gewinning aan de nieuwe smaakstimulus. Daartoe werd de appelsapopname op dag 2 vergeleken met die op dag 6. Er bleek echter geen significant verband te bestaan tussen deze beide hoeveelheden (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 12$, $R = 163$, $\alpha > 0.1$).

Tenslotte werd nagegaan hoe snel de gewinning aan appelsap verliep. Daartoe werd per konijn de hoeveelheid appelsap van dag x gedeeld door de hoeveelheid van dag 2. Op deze manier werd de gewinnings-index (GI) verkregen. De gemiddelde gewinnings-index bedroeg 2.4 op dag 4, 3.5 op dag 6, 4.1 op dag 8 en 4.4 op dag 10. Dit betekent dat de appelsapopname twee dagen na de eerste consumptie 2.4 maal zo groot was. Buresova en Bures (24) vermeldten voor een normale gewinning van de rat aan appelsap tenminste een verdubbeling van de vochtopname na een interval van 48 uur. De neofobie kwam bij ratten tot uiting in een daling van de appelsapopname tot circa 30% van de referentiewaarde. Uit dit experiment blijkt dat konijnen op een vergelijkbare wijze reageerden op introductie van appelsap als onbekende smaakstimulus.

De gemiddelde gewennings-index bedroeg op dag 6, zoals in de voorgaande alinea werd vermeld, 3.5. De individuele waarden varieerden tussen 1.5 en 8.8. Er waren twee konijnen die een gewennings-index van minder dan 2.0 hadden. Ook op dag 8 en dag 10 bleef de gewennings-index van twee konijnen minder dan 2.0. Er trad dus niet bij alle konijnen een zelfde mate van gewenning op.

13.3. Conclusie

Wanneer konijnen gedurende 40 minuten per dag de gelegenheid krijgen om te drinken dan zal de gemiddelde vochtopname dalen na introductie van appelsap als onbekende smaakstimulus. De neofobische reactie kwam tot uiting in een neofobie-index van appelsap van 0.29. Het om de dag opnieuw aanbieden van appelsap leidde tot een verhoging van de vochtopname, zodanig dat op de derde dag niet langer een significant verschil bestond met de wateropname.

De gemiddelde gewennings-index van appelsap was op de tweede dag 2.4 en op de derde dag 3.5. Dit betekent dat na het eerste contact een leerproces optrad (74) waardoor herkenning van de onbekende smaakstimulus mogelijk was tijdens een hernieuwd contact. Na 3 drinkperiodes vertoonden twee konijnen nog een neofobische reactie gezien een gewennings-index van minder dan 2.0. Desalniettemin was er in een groep van twaalf konijnen geen significant verschil meer aantoonbaar met de wateropname.

Op basis van dit experiment valt niet te zeggen op welk niveau het verdwijnen van neofobie plaatsvindt. Een mogelijkheid zou een afname van de gevoeligheid van de smaakreceptoren zijn. Gezien de experimenten van Kandel (76) lijkt een centrale plaats echter meer voor de hand te liggen (pag. 13 t/m 15). Bovendien wordt informatie omtrent smaakstimuli en eventuele nadelige gevolgen zeer waarschijnlijk in het centrale zenuwstelsel gecombineerd (77, 116). Verschillende structuren in het centrale zenuwstelsel, zoals de Area postrema (77, 110), de hippocampus (79) en N. Amygdala (112, 124), spelen hierin een rol. Het lijkt dus aannemelijk dat het verworven gedragspatroon (het drinken van appelsap) berust op veranderingen in neuronale interactie in het centrale zenuwstelsel.

ANALYSE VAN DE SMAAKSTIMULUS

14.1. Inleiding

In alle experimenten betreffende de introductie van een onbekende smaakstimulus werd commercieel verkrijgbaar appelsap van hetzelfde merk gebruikt. Hoewel telkens wordt gesproken van een onbekende smaakstimulus, is het beter te spreken van meerdere onbekende smaakstimuli. Appelsap, zoals het in de handel verkrijgbaar is, bevat namelijk verschillende vaste bestanddelen in oplossing (Tabel 21), welke ieder op zich al een neofobische reactie zouden kunnen veroorzaken. In het navolgende experiment werd daarom nagegaan wat de neofobie-index is van oplossingen die één of meer van de hoofdbestanddelen van appelsap bevatten.

BESTANDEEL	GEHALTE IN g.l ⁻¹
Fructose	50
Glucose	25
Saccharose	10 - 20
Appelzuur	4.7
Citroenzuur	0.1 - 0.4
Pectinen	10 - 20

Tabel 21: De samenstelling van appelsap. De pH van deze oplossing is ongeveer 3.5. In natuurlijk vruchtensap komen alleen links draaiende optische isomeren voor. De calorische waarde is 40 kcal per 100 g.

Appelsap bevat 85 tot 95 gram aan suikers per liter. De verhouding tussen fructose en glucose is altijd 2 : 1. De voornaamste vruchtenzuren zijn appelzuur en, in mindere mate, citroenzuur. De overige vaste stoffen

zijn pectinen, waarvan het gehalte 1 tot 2% per liter is. In totaal bevat appelsap 11 à 12 % vaste bestanddelen. De pH van appelsap kan variëren; meestal ligt deze rond de 3.5. Volgens opgave van de Nederlandse Voedingsmiddelentabel (31e druk, 1978, Voorlichtingsbureau voor de Voeding, 's-Gravenhage) bevat appelsap veertig kilocalorieën (170 kJ) per honderd gram vloeistof.

Teneinde verschillende componenten van appelsap te kunnen aanbieden, werd de drinktijd van dertig konijnen beperkt tot veertig minuten per dag. Vervolgens werden vijf groepen gevormd van elk zes konijnen. Op dag 1 werd de wateropname bepaald, welke per konijn als norm van de vochtopname werd genomen. Op de even dagen werden vijf verschillende oplossingen aangeboden waarvan de samenstellingen in Tabel 22 zijn weergegeven. Deze oplossingen werden elke dag opnieuw met kraanwater gemaakt.

GROEP No:	OPLOSSING No:	SAMENSTELLING	GEHALTE in g.l ⁻¹
1	1	Appelzuur	3.10 ⁻²
2	2	Zoutzuur	1.10 ⁻²
3	3	Appelzuur	4.7
4	4	Fructose	50
		Glucose	25
		Saccharose	15
5	5	Fructose	50
		Glucose	25
		Saccharose	15
		Appelzuur	4.7

Tabel 22: Samenstelling van de verschillende oplossingen waarvan de neofobie-indices werden bepaald.

14.2. Resultaten

De oplossingen 1 en 2 van respectievelijk appelzuur en zoutzuur hadden beide een pH van 3.5. Van groep 1 is de gemiddelde vochtopname van twaalf

dagen in Fig. 28 weergegeven. Van de overige vier groepen zijn de eerste zes registratiedagen weergegeven in Fig. 29. Uit deze beide figuren valt af te leiden dat een oplossing met een pH van 3.5 geen neofobie veroorzaakte. Ook op volgende dagen trad er geen verschil op tussen opname van water en van een appelzuur-oplossing met een pH van 3.5.

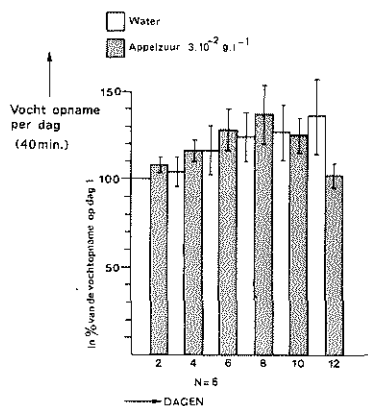


Fig. 28: Gemiddelde vochtopname van zes konijnen die veertig minuten per dag konden drinken. Op de even dagen werd als onbekende smaakstimulus een oplossing van appelzuur in water aangeboden. De pH van deze oplossing was 3.5.

Oplossing 4 veroorzaakte wel een daling van de gemiddelde vochtopname op dag 2, namelijk tot 76% van de uitgangswaarde. Deze daling was echter niet significant. De oplossing 3, met een gehalte van 4.7 g appelzuur per liter en een pH van ongeveer 2.5, deed de vochtopname op dag 2 sterker dalen. De waarde hiervan was op deze dag 59%. Aan groep 5 werd tenslotte op dag 2 een oplossing aangeboden, waarin een combinatie was opgelost van de bestanddelen van de oplossingen 3 en 4. Deze oplossing veroorzaakte een daling van de gemiddelde vochtopname tot 24% van de wateropname op dag 1. Dit was een significante daling (rangtekentoets: $n = 6$, $V = -21$, $\alpha < 0.05$). Gezien de stijging van 24% tot 48% was er op dag 6 wel sprake van gewinning aan deze vloeistof met onbekende smaak-

stimuli. De gemiddelde gewennings-index bedroeg 1.6 op dag 4 en 2.2 op dag 6.

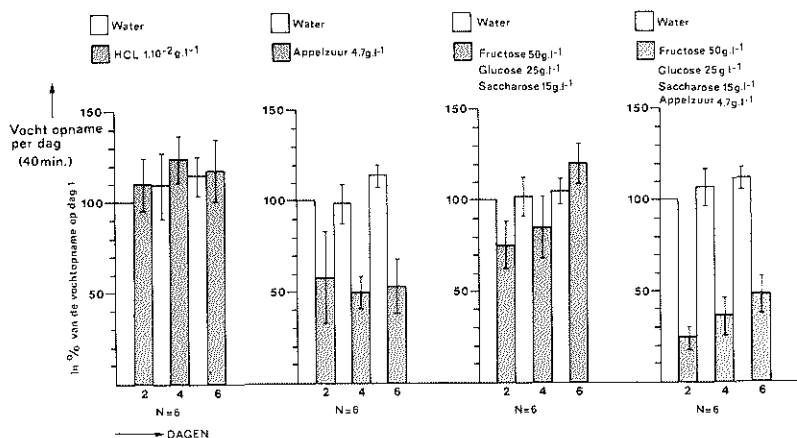


Fig. 29: Gemiddelde vochtopname van vier groepen konijnen bij een duur van de drinkperiode van veertig minuten per dag. De vier gepresenteerde oplossingen bezaten elk één of meer aspecten van appelsap.

In Tabel 23 is tenslotte een samenvatting van deze resultaten gegeven. De neofobie-indices van de vijf oplossingen maken duidelijk dat alleen oplossing 5 een met appelsap vergelijkbare neofobie-index heeft. Kennelijk is de combinatie van appelzuur met fructose, glucose en saccharose in staat bij het konijn een significante neofobische reactie te veroorzaken. Hierbij dient wel aangetekend te worden dat de groepen ieder slechts zes konijnen bevatten. Hierdoor zou een mogelijk significante daling van de vochtopname van groep 3 of 4 niet tot uitdrukking kunnen komen met de rangtekentoets.

Uit onderstaande tabel blijkt dat de neofobie-index evenredig toeneemt naarmate een oplossing meer stoffen bevat, die op zich een neofobie veroorzaken. Deze bevindingen sluiten aan bij de gegevens uit de literatuur waarin wordt vermeld, dat hogere concentraties een sterkere neofobie

veroorzaken(37, 47, 96, 98). Kennelijk heeft een combinatie van verschillende smaakstimuli een hiermee vergelijkbaar effect. In de verdere experimenten zal alleen van commercieel verkrijgbaar appelsap gebruik gemaakt worden als oplossing met een voor konijnen onbekende smaak (merk: Goudappeltje).

OPLOSSING No:	GEMIDDELDE VOCHT- OPNAME OP DAG 1		GEMIDDELDE VOCHT- OPNAME OP DAG 2		NEOFOBIE- INDEX	RANGTEKEN- TOETS
	g	%	g	%		
1	109	100	117	108	1.08	$\alpha > 0.1$
2	92	100	94	111	1.11	$\alpha > 0.1$
3	89	100	57	59	0.59	$\alpha > 0.1$
4	106	100	74	76	0.76	$\alpha > 0.1$
5	88	100	18	25	0.25	$\alpha < 0.05$

Tabel 23: Neofobie-indices van vijf oplossingen (Tabel 22, pag. 112). Elke oplossing werd door zes konijnen gedronken tijdens een drinkperiode van veertig minuten.

HET VERLOOP VAN DE VOCHTOPNAME GEDURENDE DE DRINKPERIODE

15.1. Inleiding

Zoals werd beschreven in hoofdstuk 13, veroorzaakte het introduceren van een onbekende smaakstimulus een daling van de gemiddelde vochtopname. Deze neofobie kwam tot uiting in een neofobie-index van appelsap van 0.29. Al bij het tweede contact met deze smaakstimulus 2 dagen later was de vochtopname verdubbeld. Het eerste contact met appelsap duurde 40 minuten, de duur van de eerste drinkperiode. Nu zou het mogelijk zijn dat de gewenning aan de onbekende smaakstimulus reeds tijdens deze drinkperiode optrad. Dit zou tot uiting moeten komen in het drinken van een steeds grotere hoeveelheid appelsap per tijdsinterval. Daar de drinkperiode slechts 40 minuten duurde, zou dan toch de totale vochtopname op die dag door tijdgebrek significant verlaagd kunnen zijn.

Teneinde een mogelijke gewenning aan appelsap tijdens de drinkperiode te onderzoeken werd de vochtopname van zeven konijnen in de drinkopstelling geregistreerd. Gedurende de rest van de dag zaten de konijnen in de verblijfskooien, waarin voedsel ad libitum aanwezig was. Tijdens de drinkperiode werd het gewicht van het vloeistofreservoir iedere 2 minuten bepaald. Zo werd per konijn vastgelegd hoeveel er per 2 minuten was gedronken. Vervolgens werden de gemiddelde hoeveelheden per tijdsinterval berekend en gerelateerd aan de gemiddelde, totale wateropname op dag 1 van het experiment. Alle waarden in de navolgende figuren zijn dus weergegeven in een percentage van de gemiddelde totale vochtopname op dag 1.

15.2. Resultaten

Op dag 1 was de gemiddelde wateropname van zeven konijnen na 40 minuten 96 g. Dit werd op 100% gesteld. In vergelijking hiermee was de gemiddelde appelsapopname op dag 2 33%, op dag 4 45% en op dag 6 61%. De neofobie-index werd berekend door per konijn de appelsapopname op dag 2 te delen door de wateropname op dag 1. Deze was gemiddeld 0.33 met als

uiterste waarden 0.07 en 0.63. Dit is vergelijkbaar met de eerder beschreven gegevens (pag.107).

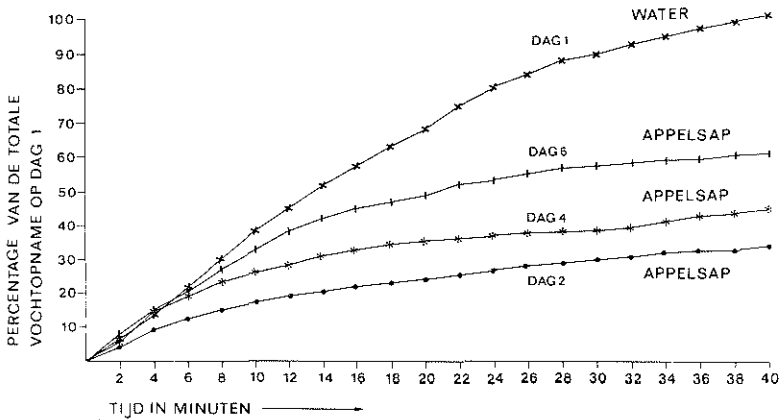


Fig. 30: Gemiddelde vochtopname van zeven konijnen die 40 minuten per dag konden drinken. De gemiddelde totale wateropname van 96 g diende als referentie-hoeveelheid, waaraan de andere gemiddelden werden gerelateerd.

In Fig. 30 is het verloop van de gemiddelde vochtopname gedurende de drinkperiode cumulatief weergegeven. Op de even dagen werd appelsap aangeboden en op de oneven dagen water. Van deze laatste is alleen de vocht-opname op dag 1 weergegeven, waarvan de gemiddelde totale hoeveelheid fungeerde als referentiewaarde. Op dag 1 was de vocht-opname na 40 minuten dus 100%. De grootste hoeveelheid water, namelijk 70% van het totaal, werd tijdens de eerste 20 minuten gedronken. Op dag 2 werd vanaf het begin van de drinkperiode minder appelsap gedronken dan water op dag 1. De hoeveelheid steeg gedurende de drinkperiode slechts zeer geleidelijk. Van de volgende drinkperioden was de appelsapopname tijdens de eerste minuten veel hoger dan op dag 2. De curven van dag 4 en dag 6 lopen langer parallel aan de curve van dag 1 om pas op een later tijdstip af te buigen.

Teneinde dit verloop nog op een andere wijze te visualiseren werd in Fig. 31 de gemiddelde vochtopname per 2 minuten apart weergegeven. Hierin is dus van ieder interval van 2 minuten de gemiddelde hoeveelheid vloeistof af te lezen die de zeven konijnen dronken. Vergelijking van de curven van dag 1 en dag 2 laat duidelijk zien dat de opname van appelsap gedurende de gehele drinkperiode sterk verlaagd is. Er is dus geen sprake van een toenemende opname van appelsap per tijdsinterval naarmate de drinkperiode verstrijkt. In tegendeel, het blijkt dat het grootste deel van de hoeveelheid appelsap in het eerste gedeelte van de drinkperiode werd gedronken. Dit patroon van het drinken van appelsap is gelijk aan dat van water. Vervolgens is in Fig. 31 ook duidelijk te zien dat de stijging van de opname van appelsap op dag 4 en dag 6 vooral tot stand kwam door een toename van de gedronken hoeveelheid vocht in de eerste minuten. Op dag 6 was het verloop van de vochtopname gedurende de eerste 10 minuten al praktisch gelijk aan dat op dag 1. Het gewenningsproces was dus pas tijdens het tweede contact met appelsap aantoonbaar en trad het eerst op in het begin van de drinkperiode.

Tenslotte is in Fig. 32 het patroon van de vochtopname nader bekeken. De gemiddelde gewichten waren na 40 minuten op de achtereenvolgende dagen respectievelijk 96, 32, 43 en 59 g. Per dag werden deze hoeveelheden op 100% gesteld. Vervolgens werd per tijdsinterval de cumulatieve hoeveelheid aan deze waarden gerelateerd. Op deze manier is het verloop van de vochtopname onafhankelijk van de absolute hoeveelheden te vervolgen. Uit Fig. 32 blijkt dat op de dagen 1, 2, 4 en 6 de vochtopname een vergelijkbaar verloop had. Dat wil zeggen, dat op alle dagen de grootste hoeveelheid tijdens de eerste helft van de drinkperiode werd gedronken. Uit het geleidelijk vlakker worden van de curven blijkt bovendien dat de vochtopname op alle dagen per tijdseenheid geleidelijk minder werd naarmate de drinkperiode verstreek.

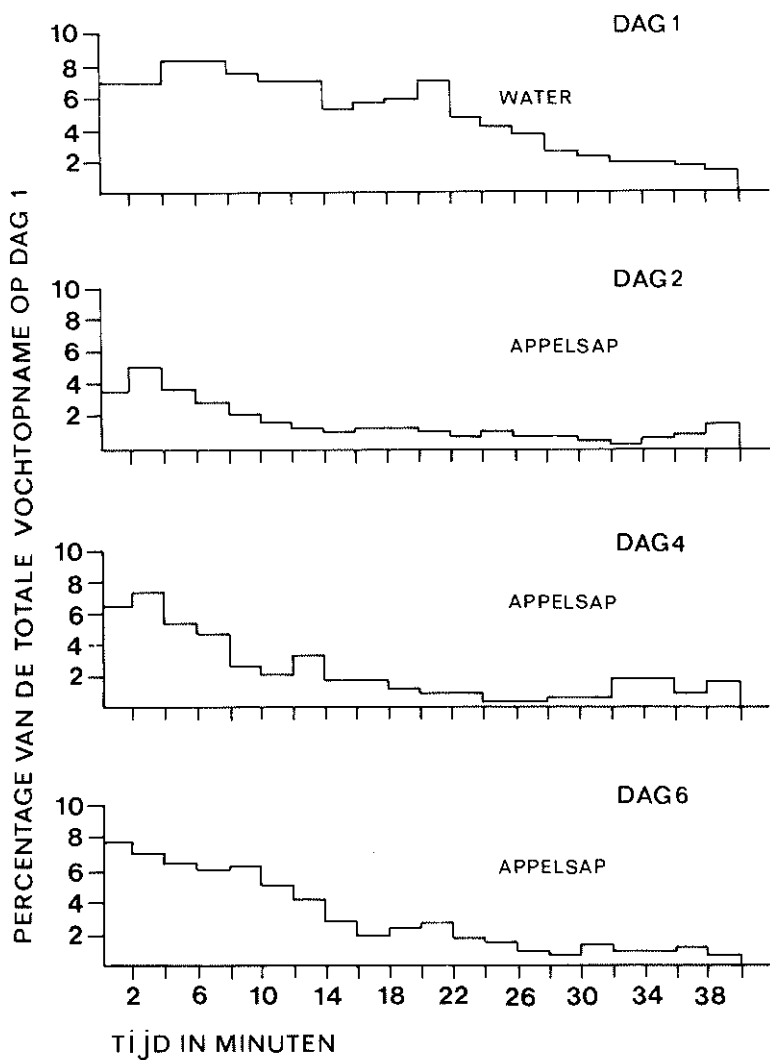


Fig. 31: Gemiddelde vochtopname van zeven konijnen per 2 minuten in een percentage van de gemiddelde totale opname van water op dag 1.

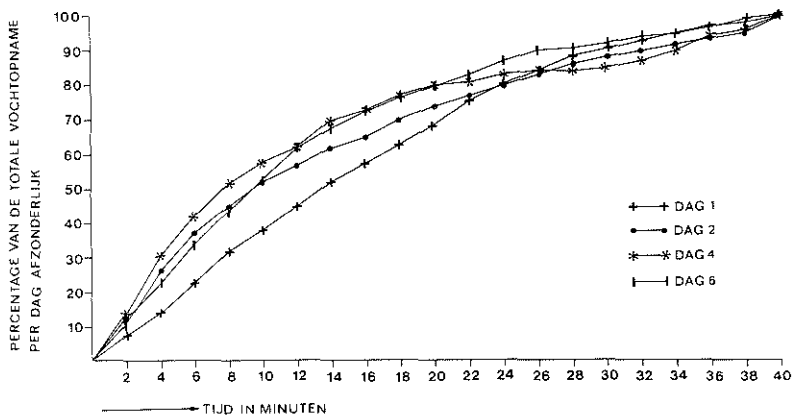


Fig. 32: Verloop van de gemiddelde vochtopname van zeven konijnen tijdens de drinkperiode, waarbij per dag de gemiddelde totale hoeveelheid als referentiewaarde werd genomen.

15.3. Conclusie

Uit de voorgaande gegevens blijkt dat het patroon van het drinken van water gelijk is aan dat van appelsap. De neofobie, noch het verdwijnen ervan, heeft hierop invloed. Bovendien is de neofobische reactie tijdens de gehele eerste drinkperiode waarin een onbekende smaakstimulus wordt aangeboden, aanwezig. Gewenning is pas tijdens een hernieuwd contact aantoonbaar, waarbij de vochtopname het eerst in het begin van de drinkperiode stijgt tot de referentiewaarde.

HERKENNING VAN EEN SMAAKSTIMULUS

16.1. VOLWASSEN KONIJNEN

16.1.1. Inleiding

In hoofdstuk 13 werd aangetoond dat appelsap een neofobische reactie veroorzaakte, welke was verdwenen tijdens het derde contact met deze smaakstimulus. Het is bekend dat ratten zelfs na een éénmalig contact met een onbekende smaakstimulus deze na verloop van meerdere weken tot maanden nog steeds herkennen (14, 73, 47, 96, 154). In het navolgende experiment werd bij vijftien konijnen nagegaan hoe de neofobische reactie verliep 3 weken na een periode van gewenning aan appelsap.

Op de eerste dag van 3 registratieperioden werd de wateropname bepaald, welke per konijn als referentiewaarde diende voor de betreffende periode. Appelsap werd op de even dagen aangeboden en water op de tussenliggende oneven dagen. Na de laatste dag van een registratieperiode, respectievelijk dag 12 van de eerste training en dag 6 van de tweede training, verliepen 22 dagen voordat op dag 2 van de volgende training opnieuw appelsap werd gegeven. Gedurende de 3 registratieperioden was de drinktijd 40 minuten per dag. Tussen de referentiewaarden op de eerste dag van de 3 trainingen bestond geen significant verschil (rangteken-toets). Dit blijkt ook uit de gemiddelde waarde van de absolute hoeveelheid water, die achtereenvolgens 105 g, 100 g en 107 g was.

16.1.2. Resultaten

In Fig. 33 is de gemiddelde vochtopname van de eerste registratieperiode weergegeven. Het patroon van de opname van appelsap, met het optreden van neofobie op dag 2 en de geleidelijke verdwijning hiervan op de volgende even dagen, is vergelijkbaar met de eerder beschreven resultaten (Fig. 26, pag 107). Op dag 2 en dag 4 is de opname van appelsap significant minder dan op dag 1 (rangtekentoets: $n = 15$; dag 2, $V = -120$, $\alpha < 0.01$; dag 4, $V = -80$, $\alpha < 0.05$). Op dag 6 was de gemiddelde vochtopname

90% van die op dag 1. Dit verschil was niet langer significant. Op de even dagen varieerde de vochtopname tussen de 95% en 103%. Het gewenningsproces kan op dag 6 als voltooid worden beschouwd. Dientengevolge waren er dus 3 dagen waarop een bekrachtiging plaatsvond van de opgetreden gewenning aan de onbekende smaakstimulus.

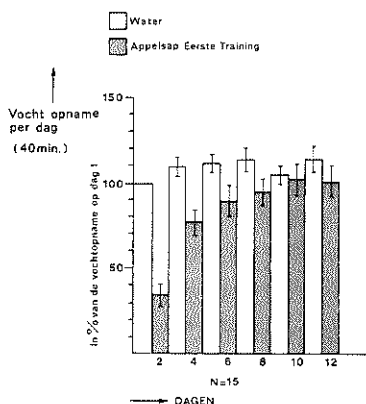


Fig. 33: Gemiddelde vochtopname van vijftien konijnen. De duur van de drinkperiode tijdens deze eerste registratie was 40 minuten per dag.

Na een interval van 22 dagen bedroeg de gemiddelde opname van appelsap op dag 2 van de tweede registratieperiode 62% van de wateropname op de voorgaande dag. Dit is een significant verschil (rangtekentoets: $n = 15$, $v = -120$, $\alpha < 0.01$). Echter de vochtopname op dag 4 en dag 6 was niet langer significant verschillend met die op dag 1 (Fig. 34).

De derde registratieperiode van de opname van appelsap begon 3 weken na de tweede; op dag 2 van deze training was de gemiddelde vochtopname 86% van die op dag 1. Dit verschil was niet significant (rangtekentoets: $n = 15$, $V = -64$, $\alpha > 0.05$). In Fig. 34 is ook de gemiddelde vochtopname van deze registratieperiode afgebeeld.

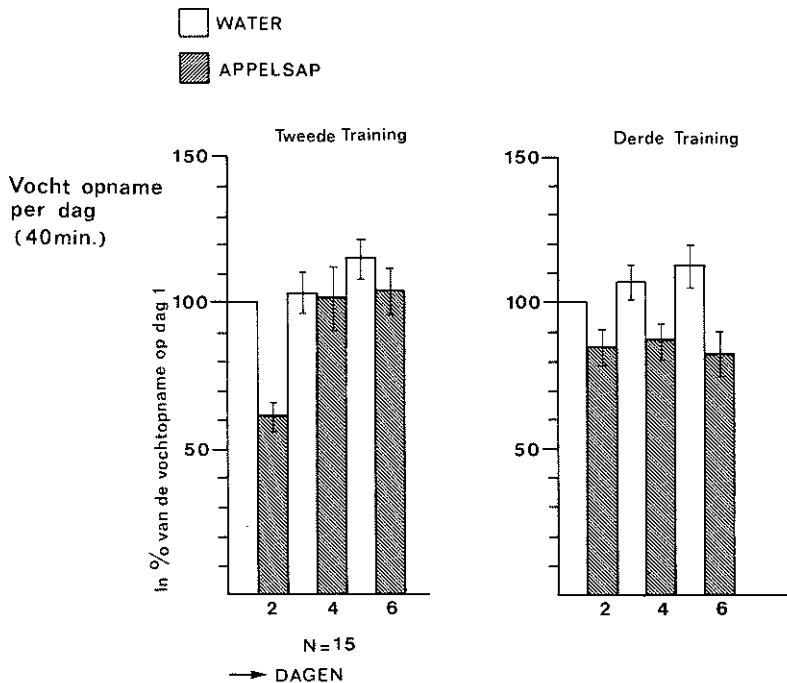


Fig. 34: Gemiddelde vochtopname van vijftien konijnen. De duur van de drinkperiode tijdens de tweede en derde training was 40 minuten per dag. Tussen dag 12 van de eerste training (Fig. 33) en dag 2 van de tweede training verliepen 22 dagen. Dit was ook de lengte van het interval tussen dag 6 van de tweede training en dag 2 van de derde.

In Fig. 35 en Tabel 24 is een vergelijking mogelijk tussen de 3 registratieperioden. In Fig. 35 zijn de gemiddelde hoeveelheden appelsap van de eerste 3 dagen van iedere registratieperiode weergegeven, terwijl in Tabel 24 het verloop van de neofobie-index kan worden vervolgd. Deze index werd op de eerder beschreven wijze bepaald (pag.106).

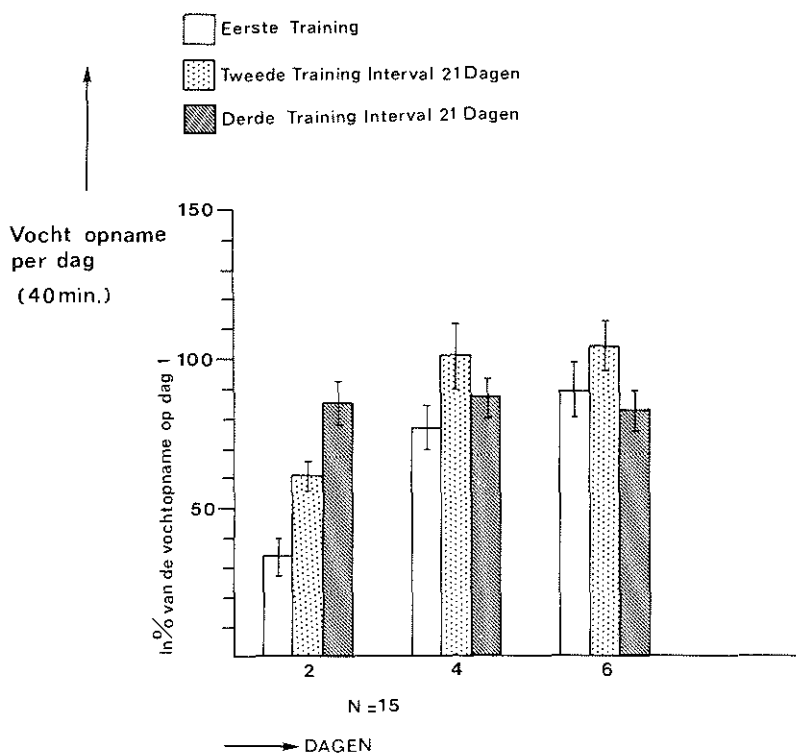


Fig. 35: Gemiddelde opname van appelsap op de eerste 3 even dagen van 3 registratieperioden. Drie weken na de voorgaande periode werd met de nieuwe training begonnen, zodat het interval tussen de presentaties van appelsap 22 dagen bedroeg.

De opname van appelsap op dag 2 verschilde significant tussen de 3 registratieperioden (training 1 t.o.v. training 2: $0.01 < \alpha < 0.02$, training 2 t.o.v. training 3: $0.01 < \alpha < 0.02$). Op de andere dagen waren de hoeveelheden vergelijkbaar. De dag waarop de opname van appelsap niet langer significant minder was dan de wateropname op dag 1, was dag 6 tijdens de eerste training, dag 4 tijdens de tweede en dag 2 tijdens de derde.

Dit betekende dat de gewenning aan appelsap steeds sneller verliep. Dit valt ook af te leiden uit het verloop van de neofobie-index (Tabel 24).

NO:	EERSTE TRAINING	TWEDE TRAINING	DERDE TRAINING
	NI	NI	NI
432	0.19	0.40	0.78
433	0.68	0.93	1.00
434	0.25	0.25	0.74
436	0.19	0.53	0.54
437	0.41	0.67	0.72
438	0.14	0.95	0.80
439	0.20	0.61	0.98
440	0.50	0.56	0.99
443	0.16	0.57	0.78
445	0.46	0.51	0.55
446	0.08	0.76	0.58
448	0.89	0.65	1.56
449	0.54	0.69	1.02
462	0.43	0.37	1.05
463	0.11	0.83	0.75
\bar{x}	0.35	0.62	0.86

Tabel 24: De neofobie-index (NI) van appelsap werd tijdens 3 achtereenvolgende registratieperioden bepaald. Het interval tussen 2 perioden was 3 weken.

Tijdens de eerste training was de gemiddelde neofobie-index 0.35 en tijdens de tweede 0.62. Er bestond dus op dag 2 van de tweede training significant minder neofobie dan op dag 2 van de eerste training (rangteken-toets: $n = 15$, $V = +87$, $0.01 < \alpha < 0.02$). Ook de stijging van de neofobie-index van 0.62 tot 0.86 tijdens dag 2 van de derde training was significant (rangtekentoets: $n = 15$, $V = +84$, $0.01 < \alpha < 0.02$).

Dit betekent dat er 22 dagen na een 12 dagen durende registratieperiode nog een duidelijke neofobische reactie bestond ten opzichte van appelsap. Deze reactie was echter significant minder sterk dan die van de eerste registratieperiode. Tweeëntwintig dagen na afloop van de tweede training was er geen neofobische reactie meer aantoonbaar. Hieruit kan worden afgeleid dat konijnen een onbekende smaakstimulus enige tijd na

afloop van een gewenningsperiode nog steeds herkennen. Dit herkenningsvermogen was echter niet zo sterk dat er geen neofobie meer optrad. Tijdens de tweede training verliep de gewenning duidelijk sneller, terwijl na deze training geen neofobische reactie meer aantoonbaar was tijdens een derde registratieperiode.

16.2. JONGE KONIJNEN

16.2.1. Inleiding

Jonge ratten die alleen van moedermelk leven, zijn in staat om bepaalde geuren te herkennen. Wanneer deze jonge dieren zogen en tegelijkertijd een onbekende reukstimulus krijgen aangeboden, dan tonen zij op latere leeftijd een voorkeur voor deze stimulus (18). Verschillende diersoorten kunnen op volwassen leeftijd ook een voorkeur voor onbekende smaakstimuli hebben, wanneer het eerste contact hiermee op zeer jonge leeftijd heeft plaatsgevonden (26, 71). Tenslotte is aangetoond dat volwassen ratten minder neofobie vertonen ten opzichte van een onbekende smaakstimulus en hier sneller aan wennen, indien deze dieren tijdens de periode van zogen aan meerdere andere, onbekende smaakstimuli zijn blootgesteld (26).

Konijnen worden relatief immatuur geboren ten opzichte van andere diersoorten. Bij de geboorte is met name het gewicht van de hersenen minder. De hersenen vertonen na de geboorte een snelle groei (57). In het navolgende experiment werd onderzocht of het aanbieden van een onbekende smaakstimulus aan pasgeboren konijnen op latere leeftijd zou leiden tot een afname van de neofobische reactie ten opzichte van deze smaakstimulus. Daartoe werden achtenveertig pasgeboren konijnen, die uit 10 nesten kwamen, verdeeld over 3 groepen. Zo mogelijk werden de dieren uit één nest gelijkelijk verdeeld over de 3 groepen.

De behandeling van de jonge konijnen begon één dag na de geboorte en duurde 21 dagen. Per dag waren de dieren hierdoor maximaal 15 minuten buiten het nest; de overige tijd werden voedsters en jongen ongemoeid gelaten. De 3 groepen werden op een verschillende manier behandeld.

- I. Groep 1 bevatte veertien jonge konijnen, die een schijnbehandeling ondergingen. Dagelijks werden de dieren op een vaste tijd uit het nest gehaald en in een verwarmde bak geplaatst. Daaruit werden de dieren afzonderlijk opgepakt en gedurende ongeveer 1 minuut in de hand vastgehouden. Nadat de konijnen zo waren behandeld, werden ze alle op hetzelfde tijdstip weer in het nest gezet.
 - II. Groep 2 bevatte zeven jonge konijnen, die op een vergelijkbare wijze werden behandeld. Echter tijdens het gedurende 1 minuut vasthouden werd met een pipetje één druppel kraanwater in de bek gedaan.
 - III. Groep 3 bevatte zeventien jonge konijnen, die tijdens de dagelijkse behandeling één druppel appelsap in de bek kregen toegediend.
- Tot de leeftijd van 6 weken verbleven de jonge konijnen bij de voedsters. Hierna werden zij apart in verblijfskooien ondergebracht, waarin kraanwater en voedselkorrels als voeding werd aangeboden. Op een leeftijd van ruim 8 weken werd de dagelijkse drinkperiode ingekort tot 40 minuten per dag. Precies 9 weken na de geboorte kon zo de referentie-hoeveelheid van de wateropname gemeten worden, waarna op de volgende even dagen appelsap werd aangeboden. De registratie van de vochtopname vond plaats in de verblijfskooien.

16.2.2. Resultaten

Op dag 1 bedroeg de gemiddelde wateropname in groep 1 56 gram, in groep 2 eveneens 56 gram en in groep 3 63 gram. De lichaamsgewichten van de konijnen varieerden van 750 tot 1700 g, waarbij de zwaardere konijnen ook een grotere absolute vochtopname hadden. In de figuren 36, 37 en 38 zijn appelsap- en wateropname weergegeven van respectievelijk de groepen 1, 2 en 3. Per konijn werd per dag de vochtopname uitgedrukt in een percentage van de vochtopname op dag 1. De gemiddelden van deze percentages zijn in de figuren afgebeeld.

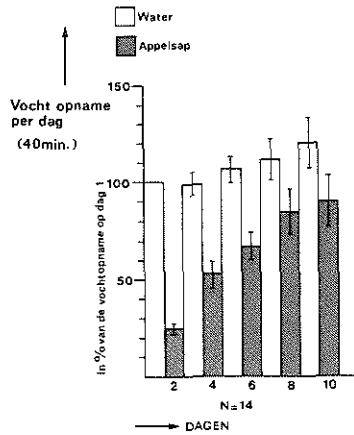


Fig. 36: Gemiddelde vochtopname van veertien 9 weken oude konijnen die de eerste 3 weken na de geboorte dagelijks een schijn-behandeling ondergingen.

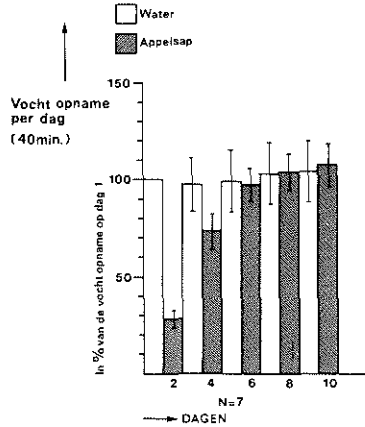


Fig. 37: Gemiddelde vochtopname van zeven 9 weken oude konijnen die de eerste 3 weken na de geboorte dagelijks een druppel kraanwater kregen te drinken.

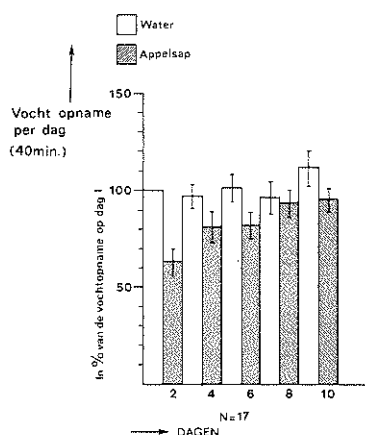


Fig. 38: Gemiddelde vochtopname van zeventien 9 weken oude konijnen die de eerste 3 weken na de geboorte dagelijks een druppel appelsap kregen te drinken.

Het verloop van de vochtopname in groep 1 (Fig. 36) was identiek aan dat van volwassen konijnen tijdens een eerste contact met appelsap. Op dag 2 daalde de vochtopname tot 26% om vervolgens op de even dagen geleidelijk te stijgen tot 86% op dag 8. Op deze laatste dag bestond er niet langer een significant verschil met de vochtopname op dag 1.

Ook groep 2 vertoonde een duidelijke neofobische reactie met een daling van de vochtopname op dag 2 tot 29%. Op dag 4 was de vochtopname van 75% al niet langer significant verschillend met die op dag 1 (Fig. 37). Van groep 3 daalde de vochtopname op dag 2 slechts tot 64% hetgeen echter wel een significante daling is in vergelijking tot dag 1 (rangtekentoets: $n = 17$, $V = -132$, $\alpha < 0.01$). Op dag 4 was de gemiddelde vochtopname 81% hetgeen niet significant minder was dan de vochtopname op dag 1 (Fig. 38).

In Fig. 39 zijn alleen de gemiddelde percentages van de opname van appelsap weergegeven. Duidelijk is dat groep 3, die direct na de geboorte appelsap kreeg te drinken, op de leeftijd van 9 weken veel minder neo-

fobie vertoonde ten opzichte van deze smaakstimulus dan groep 1, die een schijnbehandeling onderging, of dan groep 2, die direct na de geboorte kraanwater kreeg te drinken. Op dag 4 was de vochtopname in groep 1 significant minder dan die in groep 3 (Wilcoxon: $n_1 = 14$, $n_2 = 17$, $n = 31$, $S = 160$, $\alpha < 0.01$). Op dag 6 was de vochtopname in groep 1 alleen nog significant verschillend van die in groep 2 (Wilcoxon: $n_1 = 14$, $n_2 = 7$, $n = 21$, $S = 122$, $\alpha < 0.05$). De overige verschillen tussen de groepen waren niet significant.

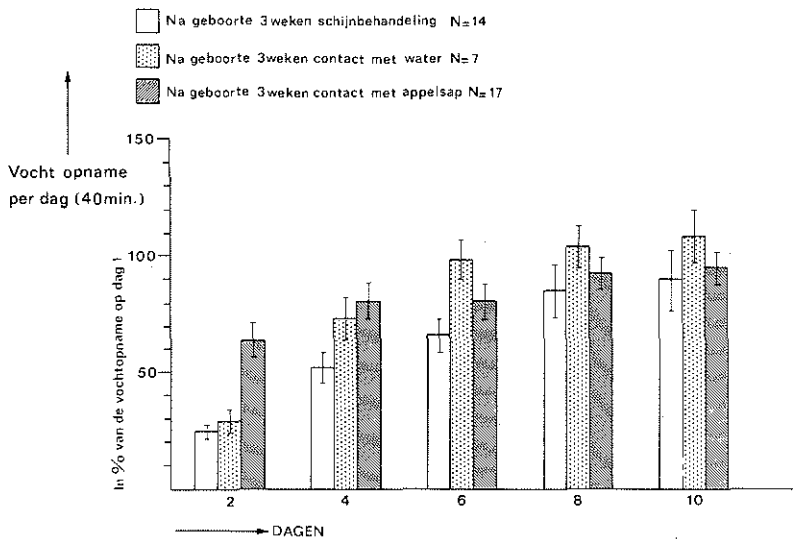


Fig. 39: Gemiddelde opname van appelsap op de leeftijd van 9 weken van 3 groepen konijnen die de eerste 3 weken na de geboorte een schijnbehandeling ondergingen (groep 1), water kregen te drinken (groep 2) of appelsap kregen te drinken (groep 3).

In Tabel 25 zijn tenslotte de neofobie-indices van de 3 groepen per konijn weergegeven. Voor de groepen 1 en 2 waren de gemiddelde waarden met respectievelijk 0.26 en 0.29 niet significant verschillend (Wilcoxon: $n_1 = 14$, $n_2 = 7$, $S = 148$, $\alpha > 0.05$). Deze beide waarden waren echter wel significant verschillend van de gemiddelde neofobie-index van 0.64 van groep 3 (Wilcoxon: $\alpha < 0.01$).

GROEP 1		GROEP 2		GROEP 3	
NO:	NI	NO:	NI	NO:	NI
573	0.27	651	0.25	566	0.87
574	0.43	652	0.26	567	0.45
575	0.29	653	0.36	568	0.64
576	0.14	654	0.52	569	0.75
658	0.22	655	0.27	570	0.92
660	0.38	656	0.24	571	0.74
661	0.35	657	0.12	572	1.44
663	0.28			641	0.29
664	0.19			642	0.57
666	0.26			643	0.48
667	0.19			644	0.61
669	0.24			645	0.40
670	0.12			646	0.13
668	0.21			647	0.72
				648	0.73
				649	0.85
				650	0.32
\bar{x}	0.26	\bar{x}	0.29	\bar{x}	0.64

Tabel 25: De neofobie-index (NI) van appelsap werd op de leeftijd van 9 weken bepaald van 3 groepen konijnen die respectievelijk de eerste 3 weken na de geboorte een schijnbehandeling hadden ondergaan (groep 1), water hadden gekregen te drinken (groep 2) of appelsap hadden gekregen te drinken (groep 3).

Uit bovenstaande gegevens blijkt dat jonge konijnen in staat waren een contact met een onbekende smaakstimulus in een geheugenspoor vast te leggen. De neofobische reactie ten opzichte van deze smaakstimulus was na een interval van 6 weken significant minder dan de neofobische reactie van 2 groepen, die geen contact met appelsap hadden gehad.

16.3. CONCLUSIE

Drie weken na een eerste gewenningsperiode aan een onbekende smaakstimulus vertoonden volwassen konijnen weliswaar een neofobische reactie, maar deze was significant verminderd. De eerste gewenningsperiode had dus een duurzame verandering bewerkstelligd. Kennelijk is het geheugenspoor van dit leerproces na een interval van tenminste 3 weken nog aanwezig. Uit de literatuur blijkt dat ratten een éénmalig contact met een

onbekende smaakstimulus gedurende zeer lange tijd kunnen onthouden (47). Of de genoemde termijn van ruim 1 jaar ook bij konijnen aantoonbaar is, is op grond van de nu ter beschikking staande gegevens niet vast te stellen. Echter in dit verband is het wellicht interessant te vermelden dat een twaalftal van de in dit experiment onderzochte jonge konijnen in een latere fase nogmaals een gewenningsperiode meemaakten. De voorlopige resultaten hiervan zijn in Tabel 25^a weergegeven. Na een interval van 150 dagen was de neofobische reactie significant afgenomen (rangtekentoets: $n = 12$, $V = +66$, $\alpha < 0.01$).

	EERSTE TRAINING	TWEEDE TRAINING
NO:	NI	NI
648	0.73	0.50
649	0.85	1.70
650	0.32	0.81
654	0.52	0.37
655	0.27	0.61
656	0.24	0.89
657	0.12	0.54
658	0.22	0.68
660	0.38	0.60
661	0.35	0.42
666	0.26	0.56
667	0.19	0.69
\bar{x}	0.37	0.70

Tabel 25^a: De neofobie-index (NI) van appelsap werd tijdens 2 registratieperioden bepaald. Het interval tussen beide trainingen was 150 dagen.

Ook bij jonge dieren werd een contact met een onbekende smaakstimulus duurzaam in een geheugenspoor vastgelegd. Dit valt af te leiden uit de significant afgenomen neofobie na een interval van 6 weken. Het verschil met de procedure bij volwassen dieren was, dat het contact met appelsap na de geboorte bestond uit dagelijks één druppel gedurende 21 dagen. Of er tijdens deze periode gewenning optrad, was gezien de proefopzet niet aantoonbaar. Bij volwassen dieren heeft een dergelijke procedure echter geen invloed op het optreden van neofobie en het verdwijnen ervan (37).

Zoals reeds eerder genoemd, hebben konijnen bij de geboorte een immatuur zenuwstelsel. Tussen de vijfde en de vijftiende dag na de geboorte treedt rijping op van het centrale zenuwstelsel, zoals door Nonneman (108) aan de hand van verscheidene testsituaties werd aangetoond (onder andere oriëntatie ten opzichte van het nest, opmerken en ontwijken van een opening in het vloeroppervlak). Bovendien zijn studies bekend van de rijping op cellulair en subcellulair niveau in de visuele cortex van het konijn. Deze rijping vindt vooral plaats tussen de tiende en de zeventwintigste dag (54, 57). Smith en medewerkers (128) hebben aangetoond dat de leeftijd een belangrijke rol speelt in het herkennen van geuren door jonge ratten. Op de tweede dag na de geboorte kunnen deze dieren dat nog niet, terwijl zij na de tiende dag geuren blijvend kunnen herkennen. Kennelijk zijn de structuren die nodig zijn voor dit herkenningsproces, dan voldoende gerijpt.

Het is aannemelijk dat onder andere de hypothalamus en de Area postrema een rol spelen in het leren herkennen van onbekende smaakstimuli (77, 110, 116). In hoeverre andere cerebrale structuren eveneens een functie hebben is nog een onderwerp van onderzoek. Evenmin is duidelijk hoe bij het konijn de rijping verloopt van de cerebrale structuren betrokken bij de smaakherkenning. In ieder geval zijn konijnen van 21 dagen oud in staat een smaakstimulus te herkennen. Of deze eigenschap gedurende deze periode, parallel aan de rijping van een bepaalde cerebrale structuur, ontstaat is niet duidelijk. Door beperking van het aantal dagen waarop direct na de geboorte appelsap wordt aangeboden, is het mogelijk na te gaan op welke leeftijd jonge konijnen in staat zijn een contact met een onbekende smaakstimulus duurzaam in het geheugen op te slaan. Met deze eenvoudige proefopzet zou het mogelijk zijn nadere gegevens te verkrijgen omtrent de postnatale rijping van het centrale zenuwstelsel van konijnen.

SMAAKAVERSIE

17.1. Inleiding

Zoals reeds eerder vermeld, kan het optreden van nadelige, lichamelijke gevolgen na de consumptie van een onbekende smaakstimulus leiden tot een zogenaamde smaakaversie. In dierexperimenteel onderzoek zijn op dit gebied zeer veel gegevens aangaande de rat bekend. Echter bij andere, zeer uiteenlopende diersoorten, zoals de kraai (106) of de prairiewolf (55) zijn eveneens smaakaversies op te wekken.

In dierexperimenteel onderzoek zijn een aantal procedures ontwikkeld waarmee smaakaversies worden opgewekt. Ten eerste kan dat door toevoeging van kopersulfaat aan de onbekende smaakstimulus, waardoor een locale irritatie optreedt van de maag. Bij deze methode ontstaat de smaakaversie alleen indien de N. Vagus intact is (77). Ten tweede kunnen na het contact met de smaakstimulus door injectie met een farmacon smaakaversies worden opgewekt (115). Afhankelijk van de dosering kunnen verschijnselen van intoxicatie optreden. Hierbij treedt mogelijk directe stimulatie op van cerebrale structuren. Lithiumchloride en apomorphine zijn twee van de in dit opzicht werkzame stoffen.

Waarschijnlijk worden chemoreceptoren in de Area postrema gestimuleerd (77), terwijl lithiumchloride ook elektrische activiteit in de N. Amygdala kan opwekken (112). In deze laatste structuur komen afferente vezels uit het gustatoire en het gastro-intestinale systeem samen (112). Ioniserende straling is eveneens zeer geschikt voor het opwekken van smaakaversies. Waarschijnlijk speelt een door de bestraling vrijkomende humorale factor een rol, welke ook door stimulatie van de Area postrema werkzaam is (110). De Area postrema bevindt zich op de bodem van de vierde hersenventrikel en is belangrijk bij het opwekken van een braakreflex bij dieren, die tot braken in staat zijn (110).

Ook met andere manipulaties, zoals het blootstellen aan elektrische schokken, is wel getracht smaakaversies op te wekken. Deze reacties zijn minder goed aantoonbaar: de invloeden zijn niet zo sterk als na intoxicatie en verdwijnen sneller (89). Kennelijk moet er een bepaalde overeenkomst zijn tussen de stimulus en de opgewekte aversieve reactie, voordat associatie tussen beide op kan treden. Dit principe van het bij elkaar passen van stimulus en aversieve reactie blijkt ook voor andere leerprocessen te gelden (46, 89, 104). In de literatuur betreffende de smaakaversie is het een telkens terugkerend basisgegeven (47, 96, 116).

Uit de literatuur blijkt dat de associatie tussen een smaakstimulus en ziekteverschijnselen, die enige tijd later worden opgewekt, niet ontstaat door een steeds voortdurende stimulatie van smaakreceptoren (114, 116). Het is zeer waarschijnlijk dat de smaakaversie in het centrale zenuwstelsel tot stand komt, waarbij de eerder in dit hoofdstuk genoemde structuren een rol kunnen spelen. In een oriënterend experiment werd een aantal konijnen na introductie van appelsap als onbekende smaakstimulus een intraperitoneale injectie met lithiumchloride (60 mg/kg lichaamsgewicht) toegediend (38). Noch het toxine, noch de injectieprocedure hadden enige invloed op de opname van appelsap op de volgende dagen; deze was vergelijkbaar met die onder controle-omstandigheden.

Een intraperitoneale injectie met apomorphine bleek bij konijnen wel invloed te hebben op de opname van appelsap. Morelli en medewerkers (100) beschreven dat apomorphine bij dieren gedragsveranderingen veroorzaakt, die worden gekarakteriseerd door doelloos herhaalde bewegingen. Bij knaagdieren komt dit tot uiting in een stereotype manier van voortbewegen, snuffelen, likken en knagen. Dit stereotype gedragspatroon wordt tot stand gebracht door stimulatie van dopaminerge receptoren in het striatum en het mesolimbische systeem (Nucleus Accumbens, Tuberculum Olfactorium).

Ook bij konijnen veroorzaakte apomorphine in de dosering van 3 mg per kg lichaamsgewicht een stereotype gedragspatroon. Vanaf enkele minuten na- tot twee uur na een intraperitoneale injectie waren er tekenen van motorische onrust met starre bewegingen. Voortdurend werden er rondjes

gelopen waarbij tegen obstakels werd gestoten. Tevens werden doelloze graaf-, krab- en knaagbewegingen gemaakt. Daarbij waren de ogen wijd open gesperd, de oren gespitst en werden alarmsignalen gemaakt door met de achterpoten op de bodem van de kooi te slaan.

Voor het veroorzaken van een smaakaversie is stimulatie van de Area postrema waarschijnlijk noodzakelijk. Gezien de verschijnselen na injectie is apomorphine bij het konijn in ieder geval werkzaam op andere cerebrale structuren. In de hierna te beschrijven experimenten over het opwekken van een smaakaversie bij konijnen werd daarom apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht) met een intraperitoneale injectie toegediend.

17.2. Uitvoering

Op de eerder beschreven wijze (pag. 99) werd de dagelijkse vochtopname van veertien konijnen geregistreerd in de verblijfskooien. De duur van de drinkperiode was 40 minuten per dag. Direct na afloop van de eerste 3 presentaties van appelsap op de dagen 2, 4 en 6 werd een intraperitoneale injectie met apomorphine toegediend. Ter voorkoming van letsel werden de konijnen 2 uur in plastic bakken (50 x 35 x 26 cm) gezet. Na 2 uur bleek geen der konijnen meer tekenen van het stereotype gedragspatroon te vertonen. De konijnen werden vervolgens weer in de verblijfskooien gezet. Op de oneven dagen werd alleen water aangeboden in de verblijfskooien. De konijnen uit de controlegroep (Hoofdstuk 13) werden niet in plastic bakken geplaatst na afloop van de drinkperiode.

17.3. Resultaten

De wateropname op dag 1 werd per konijn als referentiewaarde genomen en de vochtopname op de volgende dagen werd hieraan gerelateerd. Ter vergelijking met het verloop van de opname van appelsap zonder aversieve reactie werden de gegevens van twaalf konijnen gebruikt. De resultaten van deze groep werden reeds in hoofdstuk 13 besproken.

In Fig. 40 is de gemiddelde vochtopname van 16 achtereenvolgende dagen weergegeven. De pijlen geven de injecties met apomorphine aan op de dagen 2, 4 en 6. Op dag 2 was de gemiddelde opname van appelsap 26% van

de wateropname op dag 1. Dit leverde een neofobie-index op van 0.26 in deze groep konijnen, hetgeen een waarde is die vergelijkbaar is met eerder gevonden neofobie-indices. Op de volgende even dagen steeg de vocht-opname slechts zeer weinig, om zich na een daling op dag 8, te stabiliseren rond een waarde van 60%. Op alle dagen bleef de appelsapopname significant minder dan de wateropname (rangtekentoets dag 16 t.o.v. dag 1: $n = 14$, $V = -99$, $\alpha < 0.01$).

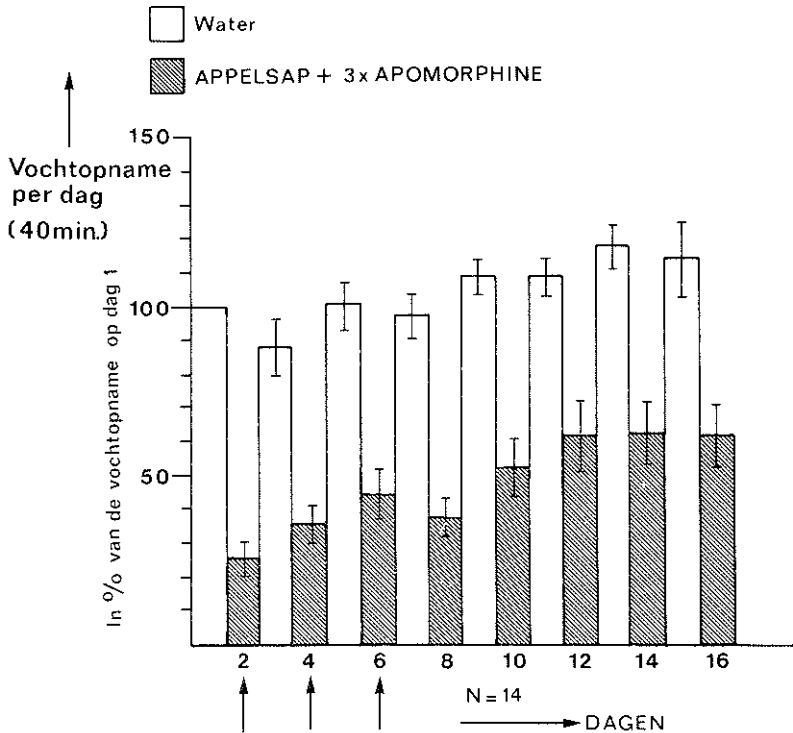


Fig. 40: Gemiddelde appelsap- en wateropname van veertien konijnen die gedurende 40 minuten per dag konden drinken. Op de dagen 2, 4 en 6 werd de drinkperiode gevolgd door een intraperitoneale injectie met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht; zie pijlen).

In Fig. 41 is de vochtopname afgebeeld van twee konijnen. Dit zijn twee kenmerkende voorbeelden van de mogelijke reactie op de introductie van

een onbekende smaakstimulus, welke werd gevolgd door injecties met apomorphine. Konijn 063 dronk op de achtereenvolgende dagen geleidelijk steeds meer appelsap, maar de appelsapopname bleef duidelijk minder dan de wateropname. Konijn 098 ontwikkelde een veel sterkere aversie tegen appelsap, hetgeen valt af te leiden uit de gedronken hoeveelheid die na dag 6 niet meer boven 6 g per dag kwam.

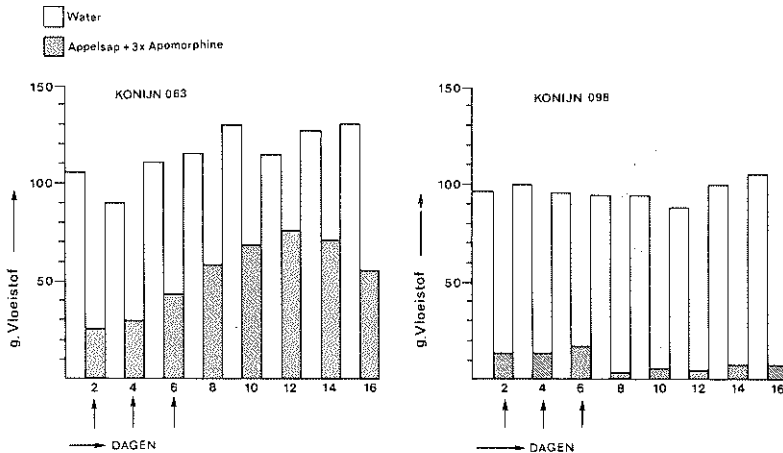


Fig. 41: Twee kenmerkende voorbeelden van de vochtopname van konijnen, waarbij introductie van een onbekende smaakstimulus op de dagen 2, 4 en 6 werd gevolgd door een intraperitoneale injectie met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht).

In Tabel 26 zijn de waarden van de vochtopname op de eerste 5 even dagen en op de referentiedag weergegeven. Op dag 4 was de opname van appelsap gestegen tot 36%, op dag 6 tot 44%. Op dag 8 trad weer een daling op tot 37%, waarna op dag 10 52% werd gedronken. Dit was een significante stijging (rangtekentoeits: $n = 14$, $V = +102$, $\alpha < 0.01$). Hieruit kan worden afgeleid dat het uitblijven van de verschijnselen van de injectie met apomorphine leidde tot een verhoging van de consumptie van appelsap. In individuele gevallen (Tabel 26, Fig. 41) bleef de opname van appelsap echter zeer laag.

	DAG 1		DAG 2	DAG 3	DAG 4	DAG 5	DAG 6	DAG 7	DAG 8	DAG 9	DAG 10
NO:	g	%	%	%	%	%	%	%	%	%	
063	106	100	26	85	28	105	41	109	55	123	65
098	96	100	14	104	14	99	18	98	3	98	5
102	121	100	56	121	56	106	51	99	72	93	85
814	121	100	11	18	3	28	4	50	3	91	3
815	184	100	3	140	8	128	20	125	4	141	5
816	147	100	30	74	48	86	60	88	31	97	37
821	158	100	11	110	15	138	13	141	37	125	75
822	107	100	11	62	12	103	16	100	45	134	71
826	100	100	15	99	56	138	84	76	40	90	70
901	95	100	38	106	78	92	96	99	87	118	119
902	80	100	70	29	38	105	11	124	26	124	43
903	96	100	38	95	68	95	91	83	57	114	80
905	104	100	18	97	39	92	63	74	35	95	39
906	95	100	23	95	36	90	53	93	27	94	36
\bar{x}	115	100	26	88	36	100	44	97	37	109	52

Tabel 26: Vochtopname van veertien konijnen in % van de wateropname op dag 1. Op de even dagen werd appelsap aangeboden als onbekende smaakstimulus; de drinkperiode op dag 2, dag 4 en dag 6 werd direct gevolgd door een intraperitoneale injectie met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht). Op de oneven dagen werd kraanwater gegeven.

Tussen de opname van water op dag 1 en appelsap op dag 2 bleek ook in deze groep geen significant verband te bestaan (rangtekentoets van Spearman: $n = 14$, $R = 599$, $\alpha > 0.1$). Om na te gaan of er per konijn gewinning optrad aan appelsap werd per dag de zogenaamde gewinnings-index (GI) bepaald. Deze werd verkregen door de opname van appelsap van dag x te delen door die van dag 2. Vervolgens werd per dag het groepsgemiddelde berekend. De gemiddelde GI was 1.6 op dag 4, 2.3 op dag 6, 1.7 op dag 8, 2.5 op dag 10, 3.0 op dag 12, 3.2 op dag 14 en 3.4 op dag 16.

Wanneer deze getallen worden vergeleken met die van pag. 109 dan blijkt, dat de gewinning ten gevolge van de toediening van apomorphine veel langzamer verliep. Zo zijn er op dag 4 tien konijnen met een $GI < 2.0$ en zelfs twee konijnen met een $GI < 1.0$, hetgeen betekent dat deze laatste twee dieren op dag 4 minder appelsap dronken dan op dag 2. Het maximale effect van de apomorphine-toediening was op dag 8, na de derde injectie-

serie op dag 6, te vinden. De gemiddelde gewenningsindex bedroeg op dag 8 1.7, terwijl drie konijnen een GI < 1.0 hadden. In Tabel 27 is een vergelijking mogelijk tussen de GI op dag 8 zonder- en met toediening van apomorphine.

GROEP 1: APPELSAP			GROEP 2: APPELSAP DRIE MAAL GEVOLGD DOOR APOMORPHINE		
NO:	NI	GI	NO:	NI	GI
	DAG 1	DAG 8		DAG 1	DAG 8
906 ^a	0.30	2.2	063	0.25	2.1
908	0.14	4.2	098	0.14	0.2
909	0.32	3.3	102	0.57	1.3
910	0.16	1.7	814	0.11	0.3
911	0.39	1.6	815	0.03	1.3
912	0.26	2.9	816	0.30	1.0
924	0.33	9.6	821	0.11	3.4
931	0.30	2.2	822	0.11	4.1
932	0.25	4.6	826	0.15	2.7
933	0.49	2.7	901	0.38	2.3
935	0.05	11.3	902	0.70	0.4
936	0.45	2.5	903	0.38	1.5
			905	0.17	1.9
			906	0.23	1.2
\bar{x}	0.29	4.1	\bar{x}	0.26	1.7

Tabel 27: De neofobie-index (NI) werd van 2 groepen konijnen verkregen door de opname van appelsap van dag 2 te relateren aan de wateropname van de voorgaande dag. De gewennings-index (GI) werd verkregen door de opname van appelsap van dag 8 te relateren aan die van dag 2. Van groep 2 werden de eerste 3 drinkperioden van appelsap direct gevolgd door een intraperitoneale injectie met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht).

Uit Tabel 27 blijkt dat de GI op dag 8 in de apomorphinegroep significant minder was dan in de controlegroep (Wilcoxon: $n_1 = 12$, $n_2 = 14$, $n = 26$, $S = 216.5$, $\alpha < 0.01$). Daar het maximale effect op dag 8 aantoonbaar was, werd nagegaan of er een verband bestond tussen de hoeveelheden welke op dag 2 en dag 8 werden gedronken in de apomorphinegroep. De correlatiecoëfficiënt r_s was 0.48; het verband was niet significant (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 14$, $R = 237$, $0.05 < \alpha < 0.1$).

Dit is in tegenstelling tot wat in de literatuur wordt vermeld. Archer en Sjöden (3) vonden bij ratten namelijk een sterk verband. Echter tussen de mate van neofobie en van smaakaversie bleek bij ratten geen consistent verband te bestaan. Bij konijnen was een verband tussen NI en GI (dag 8) evenmin aantoonbaar.

In navolging van Archer en Sjöden (3) kan op dag 8 de verhouding tussen de gewinningswaarden van de apomorphinegroep en de controlegroep worden berekend. Deze verhouding is 0.4. Dit geeft aan tot welk niveau de opname van appelsap werd onderdrukt in vergelijking tot de te verwachten consumptie op die dag. Tenslotte is in Fig. 42 een overzicht gegeven van de opname van appelsap op de eerste 5 even dagen zonder- en met de 3 maal herhaalde injectieserie. Reeds na de eerste injectieserie was de opname significant minder (Wilcoxon: $n_1 = 12$, $n_2 = 14$, $n = 26$, $S = 209.5$, $\alpha < 0.05$), terwijl dit verschil op de overige dagen bleef bestaan (Wilcoxon: $\alpha < 0.01$).

17.4. Conclusie

Een intraperitoneale injectie met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht) veroorzaakte bij konijnen stereotype gedragsveranderingen, welke werden gekenmerkt door voortdurend in de kooien rondlopen en door doelloze krab-, knaag- en graafbewegingen. Deze verschijnselen begonnen enkele minuten na de injectie en duurden ongeveer $1\frac{1}{2}$ uur.

Het drinken van een onbekende smaakstimulus werd op de eerste 3 dagen gevolgd door een injectie met apomorphine. Hierdoor ontstonden de bovenvermelde symptomen uiterlijk 5 minuten na het einde van de 40 minuten-durende drinkperiode. Het gevolg van de injectie was ook dat de opname van appelsap op de achtereenvolgende even dagen slechts zeer geleidelijk toenam. Na de derde injectieserie was de gemiddelde opname op dag 8 zelfs minder dan op dag 6.

Nadat het drinken van appelsap niet langer werd gevolgd door de injectie met apomorphine steeg de opname van appelsap van 37% tot rond 60% van de wateropname. Zelfs na 4 dagen zonder intoxicatieverschijnselen

was de opname van appelsap op dag 16 nog steeds significant minder ($\alpha < 0.01$) dan de wateropname.

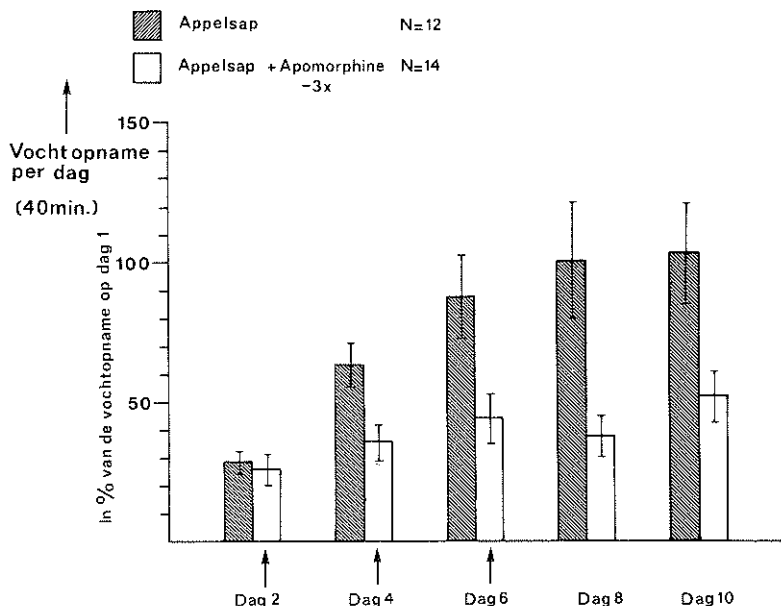


Fig. 42: Het verloop van de vocht opname op de eerste 5 even dagen na de introductie van een onbekende smaakstimulus, die al of niet werd gevolgd door een intraperitoneale injectie met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht).

Vergelijking met de opname van appelsap zonder dat die werd gevolgd door intoxicatieverschijnselen, liet zien dat de consumptie door injecties met apomorphine significant minder was. Zo was de gewenning aan appelsap op dag 8 slechts 4/10 van de te verwachten gewenning op die dag. Ook nadat niet langer apomorphine werd toegediend bleef de appelsapopname minder. Door het injecteren van apomorphine na de drinkperiode ontstond er een blijvend verminderd opnameniveau tot ongeveer 60% van de wateropname op dag 1. Ook bij konijnen kan dus een smaakaversie tegen een

een onbekende smaakstimulus worden opgewekt. Het maximale aversieve effect treedt daarbij op op de eerstvolgende testdag na het voor de laatste maal injecteren van apomorphine.

KAN SMAAKAVERSIE WORDEN OPGEWEKT ZONDER NEOFOBIE?

In het vorige hoofdstuk werd beschreven dat er geen verband bestond tussen de mate van neofobie en smaakaversie. Met andere woorden: de hoeveelheid van een onbekende smaakstimulus welke door door konijnen werd gedronken op de eerste dag, waarop aversieve verschijnselen werden veroorzaakt (dag 2), had geen voorspellende waarde voor de hoeveelheid welke op de dag van het maximale effect (dag 8) werd gedronken. Toch zijn er vele onderzoekers die het belang van neofobie onderstrepen in experimenten, waarin een smaakaversie wordt opgewekt (114). Nachman en medewerkers (103) vonden een sterke correlatie tussen neofobie en smaakaversie. Anderen konden dit verband niet aantonen (3).

Bures (persoonlijke mededeling) vermeldde dat de aversieve reactie van ratten tegen een onbekende smaakstimulus beter aan te tonen is, naarmate de neofobie minder is. Zijn veronderstelling is daarbij dat het opname-niveau na een sterke neofobische reactie niet nog meer kan verminderen door het opwekken van intoxicatie-verschijnselen daar de absolute opname al zeer laag is. Het is daarbij gebleken dat een oplossing van sacharine 0.1% een zwakke neofobische reactie veroorzaakte bij ratten. Intra-peritoneale injecties met lithiumchloride (60 mg/kg lichaamsgewicht) deden wel een duidelijke smaakaversie ontstaan (38, 112).

In het navolgende experiment werd de vochtopname van twaalf konijnen geregistreerd in de verblijfskooien. De duur van de drinkperiode was 40 minuten per dag. Op dag 1 werd de vochtopname gemeten, welke per konijn als referentiewaarde diende. Vervolgens werd op de even dagen een onbekende smaakstimulus aangeboden in de vorm van sacharine 0.1% (w/v) in water. Na afloop van de drinkperiode op de dagen 2, 4 en 6 werd een intraperitoneale injectie toegediend met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht). Dit veroorzaakte dezelfde verschijnselen als welke op pag. 138 werden beschreven.

In Fig. 43 is de gemiddelde vochtopname van 18 dagen weergegeven. Op dag 2 bedroeg de gemiddelde vochtopname 98% van die op dag 1. Dit leverde een neofobie-index op voor de sacharine-oplossing van 0.98. Het verschil met de wateropname op dag 1 was dan ook niet significant (rangtekentoets: $n = 12$, $V = -6$, $\alpha > 0.1$). Ten gevolge van de injecties met apomorphine daalde de vochtopname op dag 4 en dag 6 niet significant.

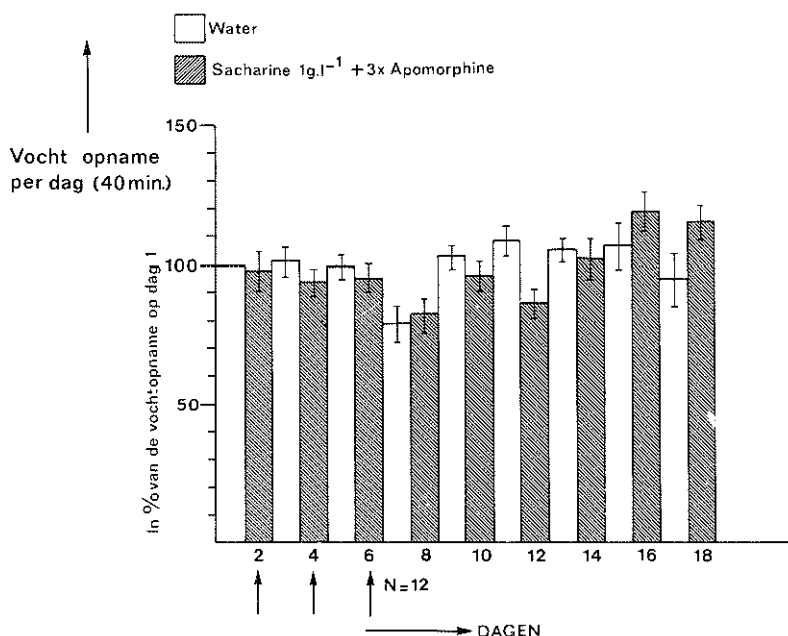


Fig. 43: Gemiddelde vochtopname van twaalf konijnen tijdens een drinkperiode van 40 minuten per dag. De introductie van een onbekende smaakstimulus werd op de dagen 2, 4 en 6 gevolgd door een intraperitoneale injectie met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht).

Op dag 8 was de vochtopname vergeleken met die van dag 1 wel significant verminderd (rangtekentoets: $n = 12$, $V = -58$, $0.02 < \alpha < 0.05$). Echter ook de wateropname op de voorgaande dag (dag 7) was verminderd (rangtekentoets: $n = 12$, $V = -61$, $0.01 < \alpha < 0.02$). Op de overige dagen traden geen

significante verschillen op. Dit betekent dat er na de 3 maal herhaalde injectie een aversieve reactie optrad tegen zowel water als sacharine. Bij de opvolgende presentatie van beide vloeistoffen bleek geen vermindering van de vochtopname meer aantoonbaar. Er was dus zeker geen sprake van een langdurige smaakaversie tegen alleen de sacharine-oplossing.

Uit het voorgaande kunnen twee dingen worden afgeleid. Ten eerste ontwikkelen konijnen geen blijvende smaakaversie tegen een oplossing die geen neofobie veroorzaakt. Het optreden van neofobie lijkt dus een voorwaarde voor het doen ontstaan van een blijvende smaakaversie. Ten tweede kunnen konijnen na het 3 maal opwekken van intoxicatieverschijnselen een voorbijgaande smaakaversie vertonen tegen een bekende smaakstimulus (water). Mogelijk was de passagère aversie uiting van een algemene aversie tegen het drinken op zich, daar de intoxicatieverschijnselen in dit experiment niet met een onbekende smaakstimulus konden worden geassocieerd.

Om de suggestie van Bures (pag. 147) bij het konijn nader te onderzoeken zouden in deze proefopzet andere oplossingen moeten worden gebruikt met een neofobie-index tussen die van appelsap en sacharine 0.1%. De mogelijkheid bestaat dat deze laatste oplossing door konijnen, in tegenstelling tot ratten, niet kan worden onderscheiden van water.

INVLOED VAN HYPOBARE HYPOXIE OP HET VERDWIJNEN VAN NEOFOBIE

19.1. Inleiding

Uit de literatuur is bekend dat uitgesproken smaakaversies kunnen worden opgewekt, wanneer enige uren zijn verstreken tussen het aanbieden van de onbekende smaakstimulus en het veroorzaken van intoxicatie-verschijnselen. Daarbij is de smaakaversie sterker naarmate het tijdsinterval tussen beide gebeurtenissen korter is (37). Aangezien is aangetoond dat deze associatie niet berust op nog voortdurende stimulatie van perifere smaakreceptoren is het aannemelijk dat ten gevolge van de impulsen van de smaakreceptoren veranderingen optreden in het centrale zenuwstelsel welke geruime tijd voortduren (104). Dat deze veranderingen afhankelijk zijn van het adequaat functioneren van bepaalde neuronale structuren lijkt zeer waarschijnlijk.

Voortvloeiend uit deze gedachtengang rees de vraag of interferentie met cerebrale functies, zoals dat bijvoorbeeld tijdens cerebrale hypoxie plaatsvindt, het vermogen kan beïnvloeden om een contact met een onbekende smaakstimulus in een geheugenspoor vast te leggen. Best en Gemberling (14) toonden aan dat ratten een eenmalig contact met een onbekende smaakstimulus (een caseïne-hydrolysaat oplossing) gedurende tenminste 1 week onthouden. Zij maakten bovendien aannemelijk dat het contact met de smaakstimulus na de drinkperiode gedurende enige tijd in een zogenaamd korte-termijn geheugen wordt opgeslagen. Tijdens de activiteit in dit geheugensysteem zou associatie met aversieve verschijnselen kunnen optreden.

Sara (120) onderzocht bij ratten het vermogen om elektrische schokken te leren vermijden. Dieren die een bepaalde testruimte betraden, kregen tijdens de leerfase van het experiment een elektrische schok toegediend via de poten. Eén dag later werd gemeten hoeveel tijd verstreek voor de aldus behandelde dieren opnieuw de betreffende ruimte betraden.

Deze latentietijd bleek significant langer te zijn dan tijdens de leerfase. Indien ratten direct na de leerfase gedurende 10 minuten in een ruimte verbleven waarin een gasmengsel van $3\frac{1}{2}\%$ O_2 in N_2 werd ingeademd, dan was de latentietijd significant korter dan zonder hypoxie, maar langer dan tijdens de leerfase. Er was, met andere woorden, een gedeeltelijke retrograde amnesie opgetreden voor de negatieve gevolgen van het betreden van de testruimte. Werden de ratten tijdens de leerfase na het betreden van de testruimte alleen blootgesteld aan hypoxie dan was de latentietijd de volgende dag niet langer. Hieruit kan worden geconcludeerd dat hypoxie in deze proefopzet geen aversieve reactie veroorzaakte.

Het is desalniettemin niet uitgesloten dat de eerder beschreven verschijnselen van hypobare hypoxie (pag.63 en 64) bij konijnen een aversieve reactie kunnen opwekken tegen een onbekende smaakstimulus. Dat hypobare hypoxie, net als apomorphine of lithiumchloride, bepaalde cerebrale structuren zal stimuleren, is echter minder waarschijnlijk. In de patroondiscriminatie-experimenten, welke gebaseerd zijn op beloning met voedsel, werden geen aanwijzingen gevonden voor een aversieve reactie tegen de voedselkorrels. Indien er door hypobare hypoxie geen smaakaversie ontstaat, maar wel een retrograde amnesie dan valt te verwachten dat de vochtopname tijdelijk minder is dan onder controle-omstandigheden (24). Nadat de dieren niet langer aan hypobare hypoxie worden blootgesteld zal een normale gewenning aan de smaakstimulus optreden. Om vergelijking mogelijk te maken met het ontstaan van een smaakaversie (Hoofdstuk 17) werd de presentatie van appelsap op de eerste 3 dagen direct gevolgd door een verblijf van 10 minuten in de onderdruktank ($p_{omg.} = 190$ mm Hg).

Allereerst werd het experiment uitgevoerd met een 40 minuten durende drinkperiode (19.2.). In hoofdstuk 15 werd aangetoond dat tijdens de eerste drinkperiode nog geen gewenning aantoonbaar was. Desalniettemin lijkt het niet onmogelijk dat na 40 minuten al een fase in de geheugen-vorming is opgetreden, die niet meer beïnvloed kan worden (44, 45). Daarom werd het experiment herhaald, nu met een duur van de drinkperiode van 20 minuten per dag (19.5.). Voorafgaande aan dit experiment werd eerst nagegaan welke de gevolgen waren van de verkorting van de drinkperiode (19.3. en 19.4.).

19.2. Hypobare hypoxie na een drinkperiode van 40 minuten

De dagelijkse vochtopname van eenendertig konijnen werd in dit experiment geregistreerd in de verblijfskooien. Na een voorbereiding van 5 dagen werden 2 groepen gevormd, die beide op dezelfde dag water (oneven dagen) of appelsap (even dagen) kregen te drinken. De hypoxiegroep werd op de dagen 2, 4 en 6 direct na de training blootgesteld aan hypobare hypoxie. Daartoe werden de konijnen gedurende 10 minuten in de onderdruktank geplaatst ($p_{omg.} = 190$ mm Hg). De eerste expositie aan hypobare hypoxie werd door één konijn niet overleefd, zodat beide groepen uiteindelijk vijftien konijnen bevatten. De overige dieren uit de hypoxiegroep konden 3 maal gedurende de volledige 10 minuten aan hypobare hypoxie worden blootgesteld.

In Fig. 44 is de gemiddelde vochtopname van de hypoxiegroep afgebeeld. De neofobie-index voor appelsap was 0.36, hetgeen betekent dat de vocht-opname op dag 2 36% bedroeg van de wateropname op dag 1. Op de achter-eenvolgende even dagen steeg de consumptie van appelsap via 69%, 85%, 84% tot 94% op dag 10. Het niveau van de vochtopname op verdere even dagen was niet verschillend van de wateropname. Deze waarden zijn in Fig. 44 niet afgebeeld.

Op dag 4 was de opname van appelsap nog significant minder dan op dag 1 (rangtekentoets: $n = 15$, $V = -108$, $\alpha < 0.01$), terwijl dit verschil op dag 6 niet langer bestond. Op dag 8 was de vochtopname gelijk aan die op dag 6. Tijdens de normale gewenning aan appelsap werd een dergelijk patroon niet gezien. Hoewel het verschil met de wateropname op dag 1 niet significant was (rangtekentoets: $n = 15$, $V = -70$, $\alpha = 0.05$), lijkt het er op dat de opname van appelsap op deze dag werd beïnvloed door de voorgaande hypoxieperioden. Deze beïnvloeding was voorbijgaand, daar na dag 8 geen significante verschillen tussen appelsap- en wateropname aantoonbaar waren.

Dit kortdurend effect komt ook naar voren wanneer de opname van appelsap vergeleken wordt met die van de vorige dag. De stijging van dag 2 naar dag 4 en van dag 4 naar dag 6 is significant. Tussen de opname op dag 6

en op dag 8 is geen verschil. Echter de stijging van dag 8 naar dag 10 is weer wel significant (rangtekentoets: $n = 15$, $V = +80$, $0.02 < \alpha < 0.05$). Kennelijk was het gewenningsproces vertraagd, want een dergelijke significante stijging tussen dag 8 en dag 10 kon onder controle-omstandigheden niet aangetoond worden.

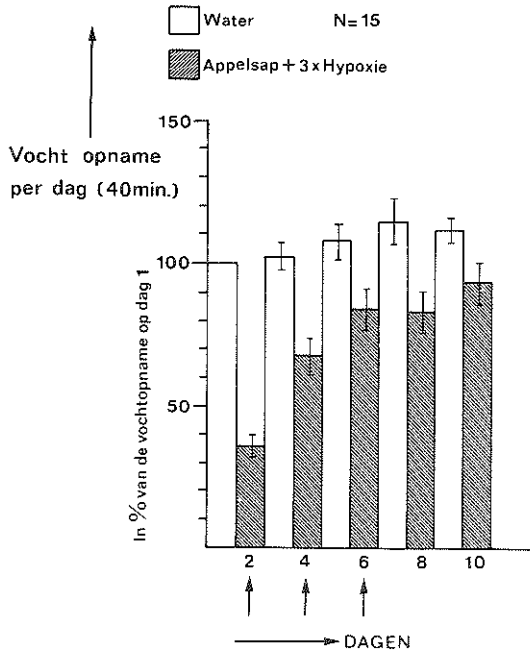


Fig. 44: Gemiddelde appelsap- en wateropname van vijftien konijnen die gedurende 40 minuten per dag konden drinken. Op de dagen 2, 4 en 6 werd de drinkperiode gevolgd door 10 minuten hypobare hypoxie ($p_{omg.} = 190$ mm Hg).

De controlegroep van vijftien konijnen had een neofobie-index van 0.42 ten opzichte van appelsap, hetgeen betekent dat deze dieren minder

neofobie vertoonden dan in eerder in dit proefschrift beschreven experimenten werd gevonden. Bovendien was de opname van appelsap op dag 4 al 88% van de wateropname op dag 1; het verschil tussen beide waarden was niet significant. Aangezien de hypoxie- en de controlegroep willekeurig werden gevormd uit één grote groep dieren van gelijke leeftijd, welke bovendien nog niet in experimenten was gebruikt, was er geen reden om a priori een verschil te veronderstellen in de snelheid van gewenning aan een onbekende smaakstimulus.

In Fig. 45 is de gemiddelde opname van appelsap afgebeeld van beide groepen. Het patroon van het stijgen van de vochtopname was op de eerste 4 dagen verschillend. Vanaf dag 10 bestond er geen onderscheid meer tussen hypoxie- en controlegroep. De verschillen tussen beide groepen werden geanalyseerd met de toets van Wilcoxon.

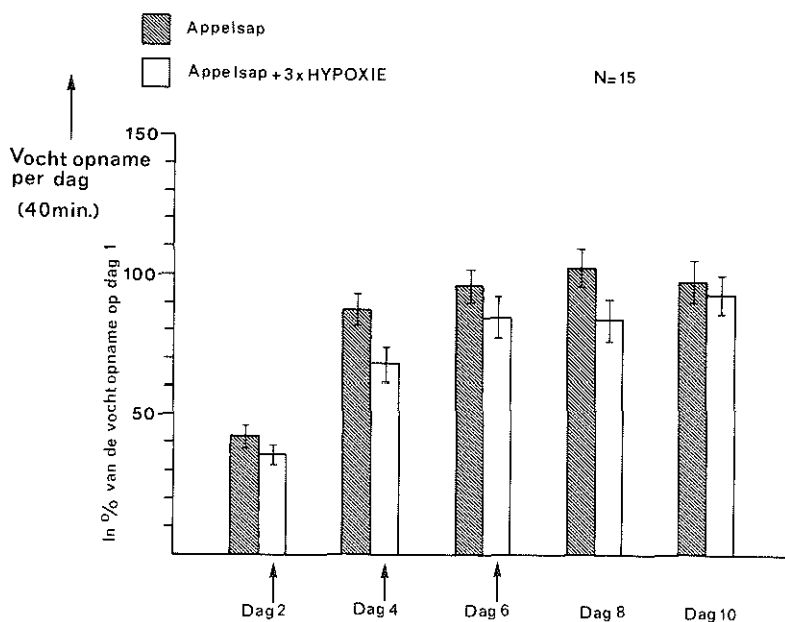


Fig. 45: Het verloop van de vochtopname op de eerste 5 even dagen na introductie van een onbekende smaakstimulus welke al of niet werd gevolgd door 10 minuten hypobare hypoxie ($p_{omg.} = 190$ mm Hg).

In Tabel 28 is de toetsingsgrootheid S weergegeven, evenals het niveau van de eventuele significantie. Op dag 4 en dag 8 bleek de vochtopname van de hypoxiegroep net significant minder te zijn dan van de controlegroep. Op dag 6 was dit verschil niet significant. Er lijkt dus wel degelijk een invloed te bestaan van de hypobare hypoxie, echter deze is niet sterk en komt wisselend tot uiting in statistische berekeningen.

DAG	HYPOXIEGROEP	CONTROLEGROEP	WILCOXON
	$n_1 = 15$	$n_2 = 15$	S
2	36	42	195 n.s.
4	69	88	182 $\alpha < 0.05$
6	85	97	193.5 n.s.
8	84	103	180 $\alpha < 0.05$
10	94	98	219.5 n.s.

Tabel 28: Gemiddelde opname van appelsap van 2 groepen konijnen in % van de wateropname op dag 1. In de hypoxiegroep werd de 40 minuten durende drinkperiode op de dagen 2, 4 en 6 gevolgd door 10 minuten hypobare hypoxie (Pomg. = 190 mm Hg). De verschillen werden met de toets van Wilcoxon geanalyseerd. n.s. = niet significant

Uit de voorgaande gegevens kan worden afgeleid dat de 3 maal herhaalde periode van hypobare hypoxie een vertraging veroorzaakte van het verdwijnen van de neofobische reactie. Erg consistent was dit verschijnsel echter niet en voor zover enig effect optrad was de vermindering van de vochtopname veel minder dan na een driemaal herhaalde toediening van apomorphine (Hoofdstuk 17).

19.3. Veranderingen na verkorting van de duur van de drinkperiode

Reeds eerder werd beschreven dat konijnen een stabiele vochtopname hadden, nadat zij 5 dagen dagelijks een beperkte tijd hadden om te drinken. In dit experiment werd de vochtopname van zes konijnen tijdens een voortraining in de verblijfskooien gemeten. Bij de start van het experiment werd de registratie in de drinkopstelling verricht (pag.99 en 100). Tot en met dag 2 was de duur van de drinkperiode 40 minuten per dag. Op de volgende dagen werd steeds water te drinken gegeven, echter de lengte van de drinkperiode werd nu verminderd tot 20 minuten per dag. De water-

opname op dag 1 werd als referentiewaarde genomen, waaraan de opvolgende resultaten werden gerelateerd.

In Fig. 46 zijn de gevolgen van de omschakeling te zien op de gemiddelde wateropname. Tijdens de eerste, kortere drinkperiode werd slechts 62% gedronken. Op de volgende dagen steeg de opname tot 71% op dag 7. Op pag.118 werd vermeld dat de vochtopname het grootst is in de eerste helft van een 40 minuten durende drinkperiode, namelijk ongeveer 70% van de totale hoeveelheid. Dit zou betekenen dat er ondanks de verkorting van de drinktijd nauwelijks sneller werd gedronken.

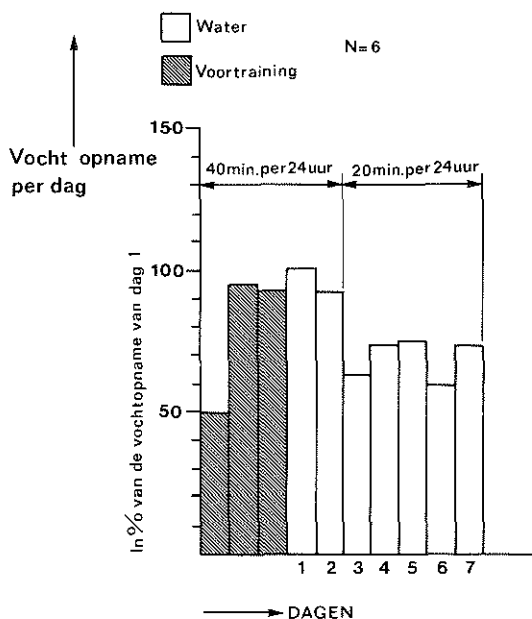


Fig. 46: Gemiddelde wateropname van zes konijnen. De lengte van de drinkperiode werd na dag 2 verminderd van 40 tot 20 minuten per dag.

In Tabel 29 is per konijn het lichaamsgewicht en de wateropname weergegeven van dag 2 en dag 7. Dit waren de laatste dagen waarop 40 respectievelijk 20 minuten gedronken kon worden. Uit deze tabel blijkt dat

door de daling van de vochtopname ook het lichaamsgewicht afnam. Echter, zoals uit Fig. 46 blijkt ontstond er weer een nieuw evenwicht tussen vochtopname en lichaamsgewicht. Daarbij stabiliseerde de wateropname zich op ongeveer 70% van de referentiewaarde.

NO:	DAG 1	DAG 2			DAG 7		
	b	a	b	c	a	b	c
008	61	1630	44	72	1585	47	110
081	70	1905	66	94	1830	48	67
084	103	1840	75	73	1710	38	37
830	77	1830	73	95	1770	50	65
843	70	1570	49	70	1540	49	70
846	117	2235	160	137	2240	129	110
\bar{x}	83	1835	78	90	1779	60	71
SE	9	96	17	10	102	14	10

Tabel 29: Gevolgen van een verkorting van de duur van de drinkperiode van 40 tot 20 minuten per dag.

a = lichaamsgewicht in g

b = wateropname in g

c = wateropname in % van de opname op dag 1

Om na te gaan of het patroon van het drinken veranderde, werd op dag 2 en dag 7 per 2 minuten het gemiddelde gewicht berekend dat de konijnen op die dagen dronken. Deze waarden werden gerelateerd aan het gemiddelde totale gewicht op dag 1 (83 g). De aldus verkregen percentages zijn in Fig. 47 cumulatief afgebeeld en in Fig. 48 per interval van 2 minuten.

In Fig. 47 is te zien dat de consumptie van water op dag 2 geleidelijk afnam. Fig. 48 verduidelijkt deze observatie. Op dag 7 dronken konijnen meer water per interval van 2 minuten, terwijl er geen sprake is van een afname. Waarschijnlijk is op deze dag de tijd een beperkende factor in de vochtopname. Hierdoor zou er na een drinkperiode van 20 minuten mogelijk meer vochtdeprivatie ontstaan dan na 40 minuten drinktijd. De afname van het gemiddelde lichaamsgewicht (Tabel 29, pag. 158) met 56 g ondersteunt deze redenering, evenals de hogere snelheid waarmee op dag 7 werd gedronken (hellingshoek van de curve van dag 7 in Fig. 47). Echter ook met een drinkperiode die 20 minuten per dag duurde, stabiliseerde de vochtopname zich (Fig. 46).

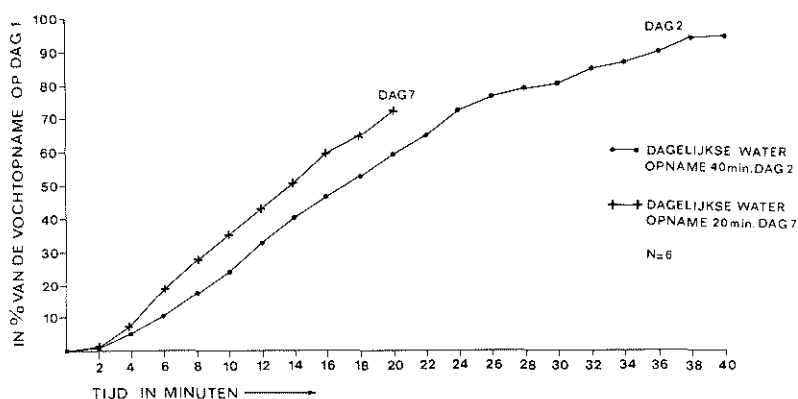


Fig. 47: Gemiddelde wateropname van zes konijnen die eerst 40 minuten en later 20 minuten per dag konden drinken. De gemiddelde totale wateropname van 83 g op dag 1 diende als referentiewaarde.

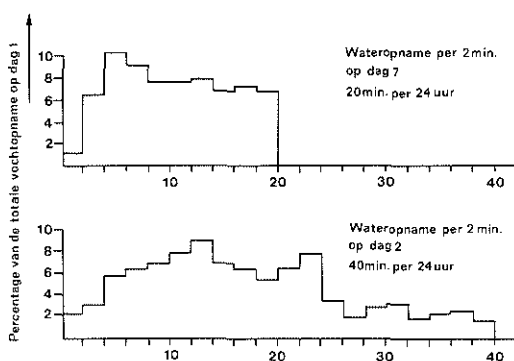


Fig. 48: Gemiddelde vochttopname van zes konijnen per 2 minuten in een percentage van de gemiddelde totale wateropname van 83 g op dag 1.

19.4. Neofobie en gewenning bij een drinktijd van 20 minuten

Wanneer de vochtdeprivatie groter is bij een drinktijd van 20 minuten per dag, kan men verwachten dat konijnen een minder sterke neofobische reactie vertonen ten opzichte van een onbekende smaakstimulus. Om deze veronderstelling te onderzoeken werd van vijftien konijnen de dagelijkse vochtopname in de verblijfskooien geregistreerd. Het experiment begon nadat de konijnen in een 5 dagen durende voortraining werden gewend aan het drinken gedurende een beperkte periode per dag. Tijdens het gehele experiment werden de konijnen iedere dag 1 uur na de drinkperiode gewogen.

In Fig. 49 zijn het gemiddelde lichaamsgewicht en de gemiddelde vocht-opname beide in g weergegeven. Tijdens de voortraining daalde het gemiddelde lichaamsgewicht van 1984 g naar 1917 g. Rond deze waarde trad stabilisatie op, waarbij de wateropname gemiddeld ongeveer 80 g per dag was. Op dag 1 waren deze beide waarden respectievelijk 1914 g en 81 g.

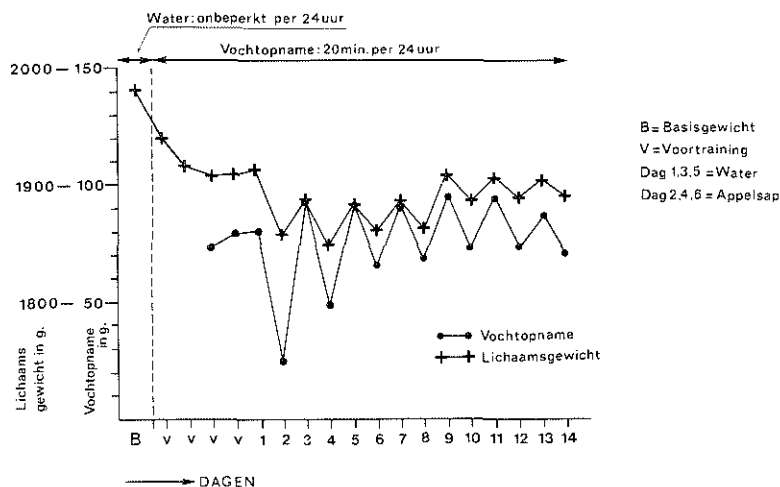


Fig. 49: Gemiddeld lichaamsgewicht en gemiddelde dagelijkse vocht-opname van vijftien konijnen die gedurende 20 minuten per dag konden drinken.

Duidelijk is te zien dat ten gevolge van de introductie van de onbekende smaakstimulus de gemiddelde vochtopname op dag 2 daalde tot 24 g en dat tegelijkertijd het gemiddelde lichaamsgewicht afnam tot 1858 g. Per konijn bestond er een goede correlatie tussen de verandering in lichaamsgewicht en in vochtopname (rangcorrelatietoets van Spearman: $n = 15$, $R = 160, \alpha < 0.01$). De correlatiecoëfficiënt r_s was 0.71.

Op de volgende oneven dagen was de wateropname gestegen tot telkens ongeveer 90 g. Parallel aan deze stijging nam ook het lichaamsgewicht toe, echter zonder in de eerste dagen weer boven de 1900 g te komen. Waarschijnlijk duidt dit op een verdere vochtdeprivatie. Op de tussenliggende even dagen nam de opname van appelsap geleidelijk toe tot deze op dag 8 niet langer significant verschillend was van de wateropname op dag 1. Het gemiddelde lichaamsgewicht daalde na dag 4 eveneens minder dan tijdens de eerste 2 contacten met appelsap. De beide curven in Fig. 49 hebben dan ook ongeveer dezelfde zaagtandvorm, hetgeen de reeds eerder beschreven nauwe relatie aanduidt tussen lichaamsgewicht enerzijds en voedsel- en vochtopname anderzijds (28).

In Fig. 50 is tenslotte de gemiddelde vochtopname weergegeven tijdens het eigenlijke experiment. Hiertoe werden eerst de hoeveelheden per konijn gerelateerd aan de wateropname op dag 1, waarna de gemiddelden werden berekend. Duidelijk is dat door de introductie van appelsap onder deze omstandigheden eveneens een zeer duidelijke daling ontstond van de vochtopname (rangtekentoets: $n = 15$, $V = -120, \alpha < 0.01$). De neofobie-index was 0.30. Op dag 4 en dag 6 was de vochtopname nog steeds significant verminderd, echter op dag 8 bestond er geen significant verschil meer met de wateropname op dag 1 (rangtekentoets: $n = 15$, $V = -60, \alpha = 0.1$). De stijging van de vochtopname tussen dag 4 en dag 2 en tussen dag 6 en dag 4 was significant; tijdens de verdere registratiedagen traden geen significante veranderingen meer op.

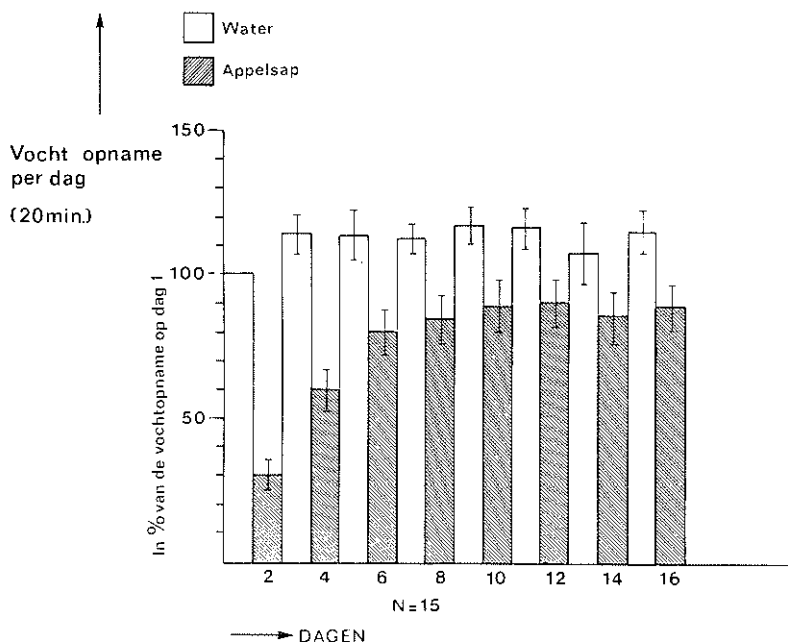


Fig. 50: Gemiddelde vochtopname van vijftien konijnen die gedurende 20 minuten per dag konden drinken.

Op de in hoofdstuk 13 besproken manier werd ook de gewennings-index berekend. Deze was 2.5 op dag 4, 3.6 op dag 6, 4.1 op dag 8 en 4.7 op dag 10. Deze waarden zijn volkomen vergelijkbaar met de op pag.109 genoemde getallen. Dit betekent dat neofobie ten opzichte van appelsap en de geleidelijke gewenning aan deze onbekende smaakstimulus bij een lengte van de drinkperiode van 40 of van 20 minuten per dag op identieke wijze verlopen. Het is daarom gerechtvaardigd een mogelijke invloed van hypobare hypoxie op het verdwijnen van neofobie te onderzoeken bij een drinkperiode van 20 minuten per dag. De hier beschreven gegevens dienen daarbij als controlewaarden.

19.5. Hypobare hypoxie na een drinkperiode van 20 minuten

In dit experiment werden vijftien konijnen er aan gewend gedurende 20 minuten per dag te drinken. Dit gebeurde op identieke wijze als in 19.4. werd beschreven. Na bepaling van de wateropname op dag 1 werd vanaf dag 2 om de dag een onbekende smaakstimulus aangeboden. Aansluitend aan de drinkperiodes op de dagen 2, 4 en 6 werden de konijnen gedurende 10 minuten in de onderdruktank geplaatst ($p_{\text{omg.}} = 190 \text{ mm Hg}$). Eén konijn overleefde de eerste expositie aan hypobare hypoxie niet; de overige veertien dieren werden 3 maal gedurende de volledige 10 minuten aan hypoxie blootgesteld. Per konijn werd de vochtopname uitgedrukt in een percentage van de wateropname op dag 1.

In Fig. 51 is de gemiddelde vochtopname van de veertien konijnen afgebeeld. De neofobie-index voor appelsap was 0.29. Op dag 4 steeg de opname tot gemiddeld 52% en op dag 6 tot 56%. Op dag 8 bleek de gemiddelde opname weer gedaald tot 44%. Daarna steeg deze via 62% en 77% tot 81% op dag 14.

Op dag 2 en dag 4 was de gemiddelde vochtopname significant minder dan de opname op dag 1 ($\alpha < 0.01$). Op dag 6 was het verschil minder groot, maar nog wel significant (rangtekentoets: $n = 14$, $V = -71$, $\alpha < 0.05$). Op dag 8 en dag 10 nam het verschil met de wateropname op dag 1 weer toe ($\alpha < 0.01$). Tenslotte was er op dag 12 niet langer sprake van een significant verschil (rangtekentoets: $n = 14$, $V = -50$, $\alpha > 0.1$). De beïnvloeding van de vochtopname door hypobare hypoxie was hier duidelijker en langer aantoonbaar dan bij een drinktijd van 40 minuten (pag. 153).

Onder deze omstandigheden was de stijging van de gemiddelde vochtopname tussen dag 4 en dag 2 significant. De veranderingen tussen dag 6 en dag 4 en tussen dag 8 en dag 6 waren dit echter niet. Nadat de presentatie van appelsap niet langer werd gevolgd door hypobare hypoxie steeg de gemiddelde vochtopname weer wel significant tussen dag 8 en dag 10 ($\alpha < 0.01$) en tussen dag 10 en dag 12 ($\alpha < 0.05$). Hiermee wordt dus duidelijker dan op pag. 154 aangetoond dat de gewenning aan appelsap werd vertraagd door hypobare hypoxie. Van een blijvend verminderde appelsapopname was echter ook onder deze omstandigheden geen sprake.

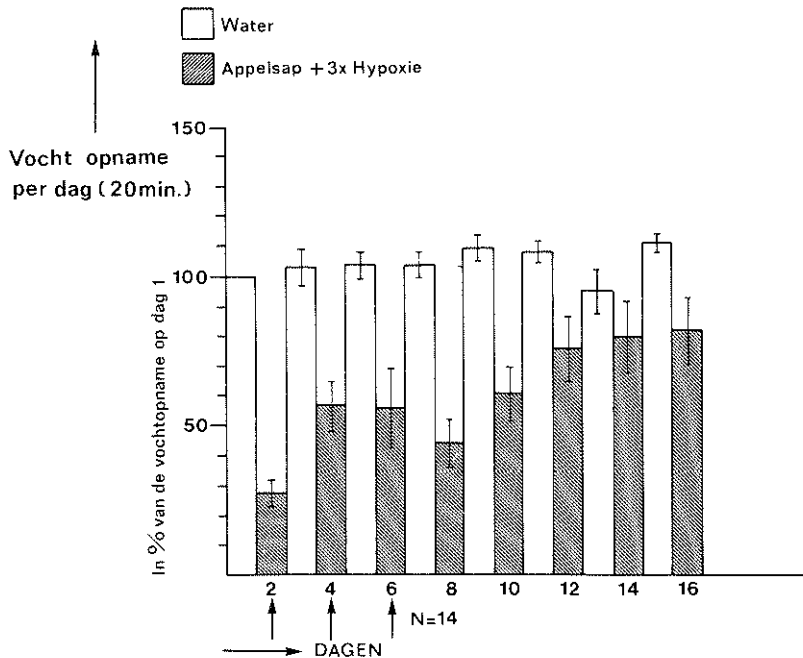


Fig. 51: Gemiddelde appelsap- en wateropname van veertien konijnen die gedurende 20 minuten per dag konden drinken. Op de dagen 2, 4 en 6 werd de drinkperiode gevolgd door 10 minuten hypobare hypoxie ($p_{omg.} = 190 \text{ mm Hg}$).

Dit valt ook af te leiden uit de gewennings-indices. Op dag 4 was deze weliswaar 2.1, maar op de volgende dagen veranderde de GI slechts weinig (2.5 op dag 6, 2.1 op dag 6 en 2.8 op dag 8). Pas op dag 10 trad een verdere stijging op tot 3.6, hetgeen een waarde is die gelijk is aan de gewennings-index op dag 6 onder controle-omstandigheden (pag. 162). De gewinning lijkt dus 2 dagen vertraagd door herhaalde hypoxieperioden.

Tenslotte werd een vergelijking gemaakt met de controlegegevens uit 19.4. De hypoxie- en controlegroep hadden een vergelijkbare wateropname op dag 1, met respectievelijk 78 g en 81 g. Ook de neofobie-indices

waren gelijk (0.29 en 0.30). In Fig. 52 is de gemiddelde vochtopname weergegeven van de eerste 7 even dagen van beide groepen. De verschillen tussen beide groepen werden ook hier geanalyseerd met de toets van Wilcoxon. De belangrijkste uitkomsten zijn weergegeven in Tabel 30.

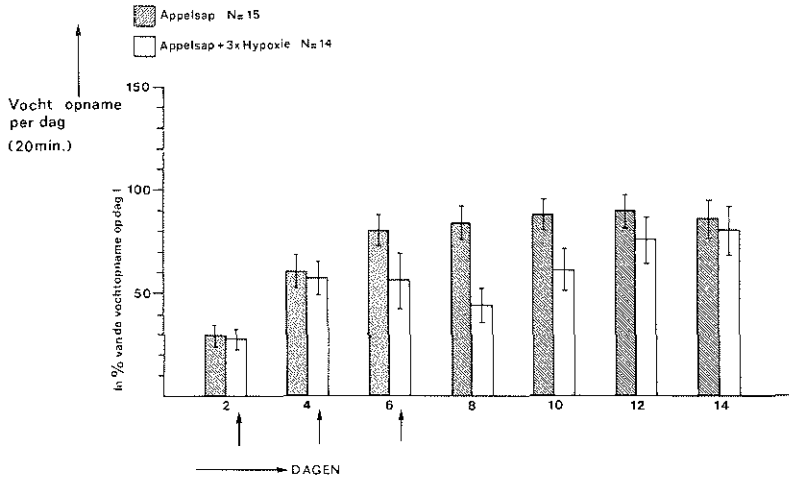


Fig. 52: Het verloop van de vochtopname op de eerste 7 even dagen na introductie van een onbekende smaakstimulus welke al of niet werd gevolgd door 10 minuten hypobare hypoxie ($p_{omg.} = 190 \text{ mm Hg}$).

DAG	HYPOXIEGROEP $n_1 = 14$	CONTROLEGROEP $n_2 = 15$	WILCOXON S
2	29	30	211 n.s.
4	52	60	192 n.s.
6	56	81	157 $\alpha < 0.05$
8	44	84	135.5 $\alpha < 0.01$
10	62	90	166.5 n.s.
12	77	91	191.5 n.s.

Tabel 30: Gemiddelde opname van appelsap van 2 groepen in % van de wateropname op dag 1. In de hypoxiegroep werd de 20 minuten durende drinkperiode op de dagen 2, 4 en 6 gevolgd door 10 minuten hypobare hypoxie ($P_{omg.} = 190 \text{ mm Hg}$). De verschillen werden geanalyseerd met de toets van Wilcoxon.
n.s. = niet significant

Uit Fig. 52 en Tabel 30 blijkt dat hypobare hypoxie onder de hier beschreven omstandigheden een vertraging veroorzaakte van de gewenning aan appelsap. Een mogelijke verklaring voor het feit dat dit op dag 4 niet aantoonbaar was, is de toegenomen toestand van vochtdeprivatie (19.4.) na dag 2, waardoor "inhaal"-drinken optrad op de dagen 3 en 4. Hierdoor werd de retrograde amnesie voor het eerste contact met appelsap gemaskeerd.

19.6. Conclusie

Hypobare hypoxie na afloop van de eerste 3 drinkperioden waarin een onbekende smaakstimulus werd aangeboden, deed de gemiddelde opname hiervan achterblijven bij het te verwachten niveau. Het gewenningsproces werd dus vertraagd, wat er op kan duiden dat de consolidatie van het geheugenspoor voor het contact met de smaakstimulus werd beïnvloed. De retrograde amnesie was het duidelijkst aan te tonen op dag 8 van de experimenten; na de laatste hypoxieperiode trad alsnog een normale gewenning op die vergelijkbaar was met de controle-omstandigheden. Een smaakaversie ontstond niet door de hypobare hypoxie.

De invloed van hypobare hypoxie was beter aantoonbaar bij een drinktijd van 20 - in plaats van 40 minuten per dag. Een factor waarmee in dit geval zeker rekening gehouden moet worden, is de toegenomen vochtdeprivatie. Tijdens de drinktijd van 20 minuten is de opnamesnelheid van water praktisch maximaal, waardoor compensatie voor de neofobische reactie nauwelijks kan optreden. Hierdoor kan een retrograde amnesie worden gemaskeerd. Al met al blijkt wel dat de geheugenprocessen na een drinktijd van 40 minuten veel minder gevoelig zijn voor hypobare hypoxie dan na 20 minuten.

Uit deze experimenten kan ook worden geconcludeerd dat het voor het aantonen van retrograde amnesie nodig is de vochtopname gedurende meerdere dagen te vervolgen. Wanneer slechts enkele registratiedagen worden gebruikt (24, zie ook pag. 95) dan is het onmogelijk onderscheid te maken tussen retrograde amnesie en smaakaversie.

DE INVLOED VAN HYPOBARE HYPOXIE OP HET VERLOOP VAN DE VOCHTOPNAME TIJDENS EEN AANSLUITENDE DRINKPERIODE

20.1. Inleiding

In hoofdstuk 10 (pag. 81 t/m 91) werd aangetoond dat konijnen een patroondiscriminatietaak na hypobare hypoxie goed kunnen leren en uitvoeren. Wel bestond er een zeer duidelijke latentietijd voordat met het patroondiscrimineren werd begonnen. Er werden eveneens aanwijzingen gevonden dat, wanneer hypobare hypoxie om de dag aan de patroondiscriminatie voorafging, er een snelle adaptatie optrad gezien de afname van de latentietijd. Deze bleef echter wel significant langer dan onder controle-omstandigheden.

In het navolgende experiment werd bij 2 groepen konijnen onderzocht of hypobare hypoxie eveneens een latentietijd zou veroorzaken voordat met het drinken van water werd begonnen. Daartoe werd de wateropname dagelijks geregistreerd in de drinkopstelling (pag. 99 en 100). Per twee minuten werd het gemiddelde gewicht berekend dat was gedronken en dit werd gerelateerd aan de totale gemiddelde wateropname op dag 1. Op de testdagen werden de konijnen 10 minuten in de onderdruktank geplaatst. Tussen het begin van de drukstijging (pag. 63) en het begin van de registratie van de vochtopname verliepen maximaal 40 seconden. Teneinde vergelijking mogelijk te maken werd de hypobare hypoxie alleen op de even dagen toegepast. Op de oneven dagen werd alleen de wateropname in de drinkopstelling geregistreerd. Bij twaalf konijnen werd de druk tijdens het verblijf in de tank op 190 mm Hg gebracht en bij twaalf andere dieren bleef de druk 760 mm Hg.

20.2. Invloed van de proefomstandigheden

Bij controlegroep van twaalf dieren werd het experiment op identieke wijze gedaan als bij de hypoxiegroep. De driewegkraan (pag. 62) werd echter in een stand gezet, waarbij lucht direct in de tank kon blijven stromen.

Na 10 minuten in de onderdruktank werd de compressor uitgeschakeld en werd 30 seconden gewacht voordat de dieren in de drinkopstelling werden geplaatst.

In Fig. 53 en Fig. 54 is de gemiddelde vochtopname cumulatief, respectievelijk per interval van 2 minuten weergegeven. De totale vochtopnamen op de 4 testdagen verschilden niet significant van elkaar. Ook tijdens de drinkperiode traden er geen wezenlijke veranderingen op. Op alle dagen was de vochtopname tijdens de eerste intervallen 8 - 10% per 2 minuten, waarna na de tiende minuut een geleidelijke afname optrad totdat aan het einde van de drinkperiode minder dan 2% per 2 minuten werd gedronken.

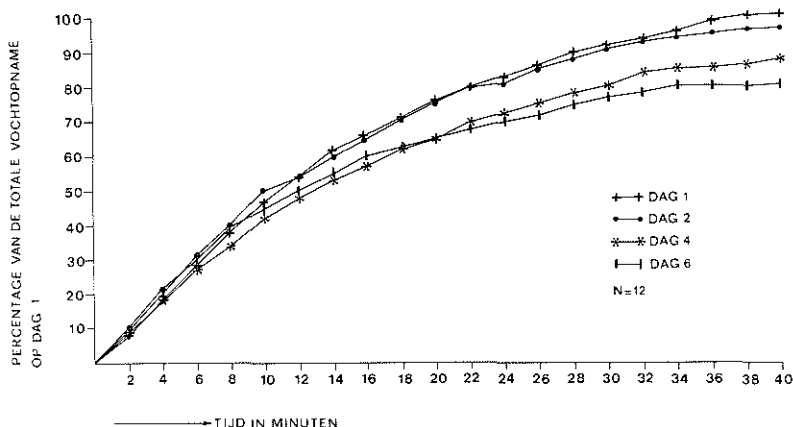


Fig. 53: Gemiddelde wateropname van twaalf konijnen die op de dagen 2, 4 en 6 direct voorafgaande aan de drinkperiode gedurende 10 minuten in de onderdruktank verbleven ($p_{omg.} = 760$ mm Hg).

Uit Fig. 53 en Fig. 54 blijkt dat het patroon van het drinken van water niet veranderde door het verblijf onder normobare omstandigheden in de onderdruktank, direct voor de drinkperiode begon. Er was met name geen sprake van enige latentietijd. Verder is het opvallend dat ruim 40% van de vochtopname tijdens de eerste 10 minuten werd gedronken. Na 20

minuten was dit 65 à 75% en na 30 minuten 75 à 90%. Tijdens de eerste 5 intervallen van 2 minuten werd dus de grootste hoeveelheid water gedronken.

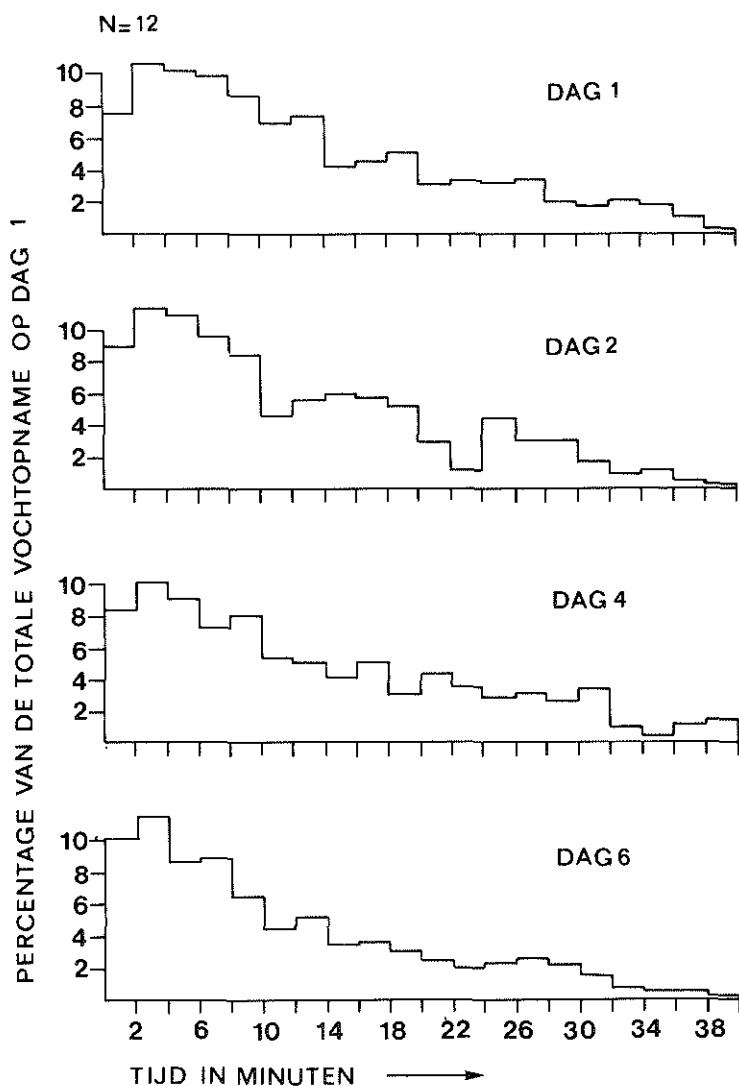


Fig. 54: Gemiddelde wateropname per 2 minuten van twaalf konijnen die op de dagen 2, 4 en 6 voorafgaande aan de drinkperiode gedurende 10 minuten in de onderdruktank verbleven ($p_{omg.} = 760$ mm Hg).

20.3. Hypobare hypoxie voorafgaande aan de drinkperiode

De twaalf konijnen van de hypoxiegroep verbleven op de even dagen eerst 10 minuten in de onderdruktank ($p_{\text{omg.}} = 190$ mm Hg) voordat met de registratie van de vochtopname werd begonnen. In Fig. 55 is de gemiddelde vochtopname cumulatief weergegeven. Op dag 1 werd gemiddeld 88 g water gedronken. Deze hoeveelheid diende als referentiewaarde, waaraan de overige gemeten waarden werden gerelateerd.

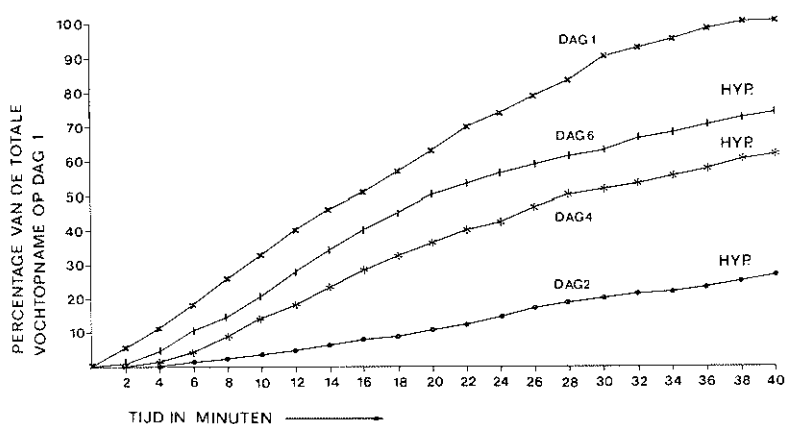


Fig. 55: Gemiddelde wateropname van twaalf konijnen die op de dagen 2, 4 en 6 voorafgaande aan de drinkperiode gedurende 10 minuten aan hypobare hypoxie werden blootgesteld ($p_{\text{omg.}} = 190$ mm Hg).

Allereerst valt op dat de vochtopname op dag 2 significant is verminderd. Ook op dag 4 is dit zo; er werd echter wel significant meer gedronken dan op dag 2. Op dag 6 was de totale vochtopname met 76% niet langer significant minder dan op dag 1.

Gedurende de drinkperiode op dag 2 steeg de vochtopname slechts zeer geleidelijk. Er is niet duidelijk aan te geven wanneer de konijnen waren hersteld van de periode van hypobare hypoxie. Op de dagen 4 en 6 werd, gezien het steilere verloop van de curve, wel meer water per tijdseen-

heid gedronken. In Fig. 56 is de gemiddelde vochtopname per 2 minuten weergegeven. Duidelijk is te zien dat op dag 2 pas na 4 minuten enig drinken van betekenis werd geregistreerd. Tevens was de wateropname tijdens geen enkel interval vergelijkbaar met die van dag 1.

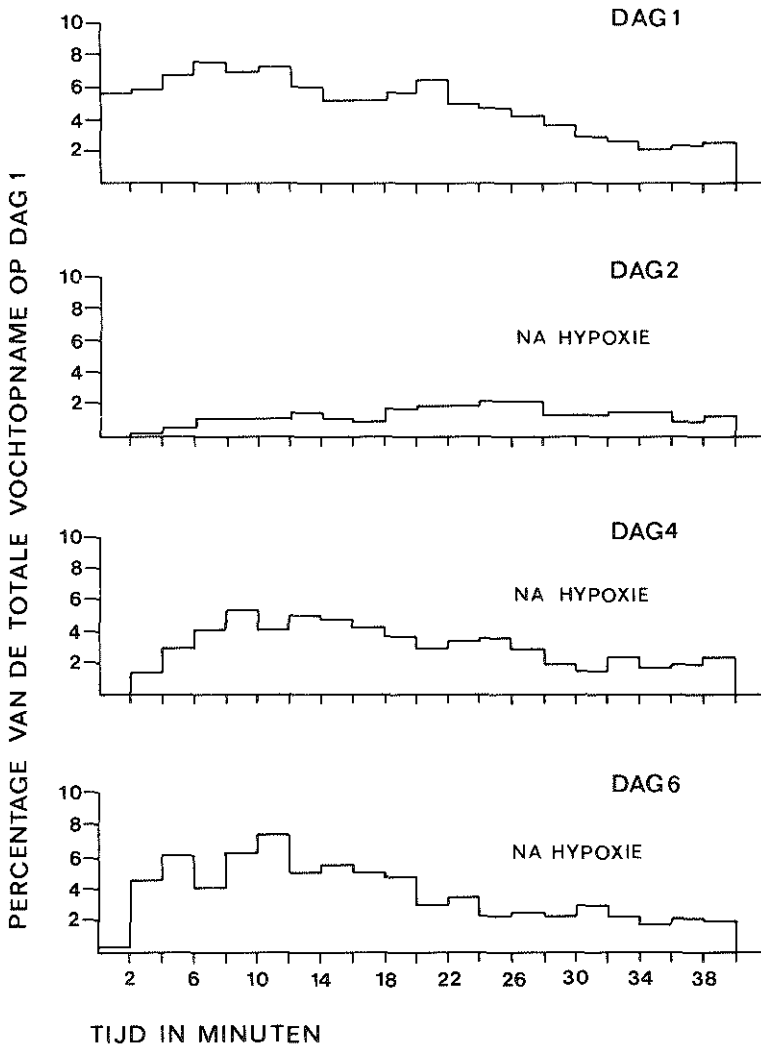


Fig. 56: Gemiddelde wateropname per 2 minuten van twaalf konijnen die op de dagen 2, 4 en 6 voorafgaande aan de drinkperiode gedurende 10 minuten aan hypobare hypoxie werden blootgesteld ($p_{\text{omg.}} = 190 \text{ mm Hg}$).

Op dag 4 was het effect van hypobare hypoxie veel minder uitgesproken, al bleef de wateropname tot en met de achtste minuut duidelijk vermindert. Tijdens het eerste interval werd bovendien niets gedronken. Op dag 6 vertoonde de drinkcurve in Fig. 56 weer veel gelijkenis met dag 1. Echter ook hier bleef de vochtopname tijdens de eerste 2 minuten zeer laag. Er lijkt dus op dag 6 nog een latentietijd te bestaan van minder dan 2 minuten.

In Fig. 57 is tenslotte na te gaan hoe de totale hoeveelheden werden bereikt. Per dag werd de gemiddelde totale wateropname op 100% gesteld. Op deze wijze werd een beeld verkregen van de vochtopname onafhankelijk van de absolute hoeveelheid.

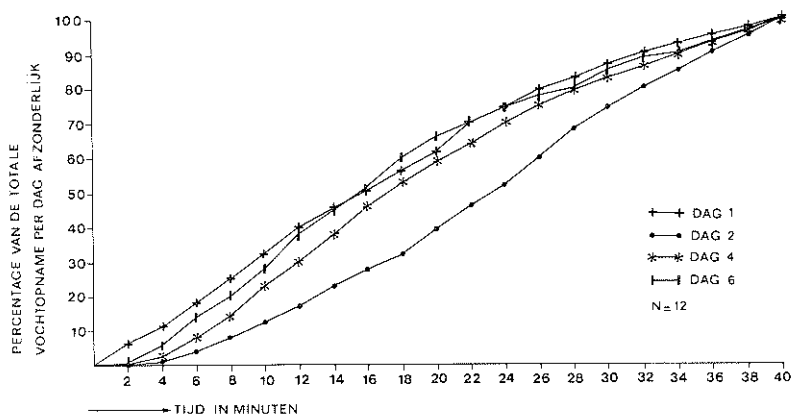


Fig. 57: Verloop van de gemiddelde wateropname van twaalf konijnen waarbij per dag de gemiddelde totale hoeveelheid als referentiewaarde werd genomen. Op de dagen 2, 4 en 6 werd de drinkperiode voorafgegaan door 10 minuten hypobare hypoxie ($p_{\text{omg.}} = 190 \text{ mm Hg}$).

In Fig. 57 is duidelijk te zien dat het patroon van de wateropname op dag 2 anders was. Op deze dag werd gedurende de eerste 10 minuten slechts 12% gedronken. Na 20 minuten was de vochtopname gemiddeld 38% en na 30 minuten 75%. De invloed van hypobare hypoxie was dus gedurende de eerste

helft van de drinkperiode het sterkst. Op de dagen 4 en 6 had de drink-curve een identiek verloop als op dag 1, afgezien van de verminderde vochtopname in de eerste intervallen van 2 minuten. Overigens trad op de tussenliggende oneven dagen een duidelijk "inhaal"-drinken op, want de gemiddelde vochtopname was met 139% op dag 3 en 130% op dag 5 significant hoger dan op dag 1.

20.4. Conclusie

Na een eerste periode van hypobare hypoxie trad een latentietijd op voordat met het drinken van water werd begonnen. Bovendien was de vochtopname gedurende de gehele drinkperiode van 40 minuten verlaagd. Deze gevolgen werden veroorzaakt door het afgenomen drukk niveau in de onderdruktank en niet door de overige proefomstandigheden.

Nadat de periode met hypobare hypoxie om de dag werd herhaald, steeg de gemiddelde vochtopname. De latentietijd nam eveneens af tot minder dan 2 minuten, maar bleef ook op dag 6 aantoonbaar. Deze resultaten komen overeen met de eerder beschreven invloed van hypobare hypoxie op het patroondiscriminatievermogen (hoofdstuk 10, pag. 85 t/m 91). Ook in dit experiment is het aannemelijk dat er een adaptatiemechanisme werkzaam was, waardoor reeds bij de tweede expositie aan hypobare hypoxie significant minder onderdrukking van de vochtopname optrad.

ALGEMENE DISCUSSIE

In het onderhavige proefschrift zijn een aantal aspecten van leren en geheugen bij het konijn onderzocht. Deze twee begrippen zijn te bestuderen in het gedrag van proefdieren. In gedragsfysiologisch opzicht betekent dit dat konijnen in vooraf opgestelde experimentele situaties werden gebracht net zolang tot een vooraf bepaalde verandering in het gedrag optrad. Zonder ervaring met de proefomstandigheden trad geen aanpassing aan het gedrag op. Het herhaalde contact met de experimentele situatie veroorzaakte een adaptatie van de reactie van konijnen. In ruime zin betekent dit dat tijdens zo'n aanpassingsperiode "leren" plaatsvond (12, 80, 89, 92, 138, 140).

Op welk moment een bepaald leerproces voltooid is, hangt af van de eisen of criteria, die de onderzoeker heeft opgesteld voor de door hem gebruikte proefopzet. Voor het patroondiscrimineren was het criterium 90% of meer juiste keuzen uit een op 1 dag binnen 40 minuten aangeboden aantal presentaties (50 of 100). Deze grens werd in het verleden op proefondervindelijke wijze voor experimenten met konijnen vastgesteld. Sindsdien is gebleken dat na het bereiken van deze grens betrouwbare gegevens kunnen worden afgeleid over bijvoorbeeld het functioneren van het visuele systeem (62, 66, 67, 130, 143). In de smaakneofobie en smaakaversie experimenten werd de opname van een onbekende smaakstimulus gerelateerd aan die van een bekende smaakstimulus. Als criterium werd tijdens deze experimenten de dag genomen waarop de vochtopname niet langer significant verschilde van de referentie-wateropname.

Beide leersituaties hebben gemeen dat de gedragsaanpassingen geleidelijk ontstonden in het verloop van meerdere contacten met de proefopstelling. Voordat de vooraf vastgestelde criteria van gedragsverandering zijn bereikt, vindt de verwerving c.q. de acquisitie van het nieuwe gedragspatroon plaats. De tussentijdse, gedeeltelijke veranderingen in het gedrag (zie Fig. 9 en Fig. 26) betekenen dat er een mogelijkheid moet zijn om

de eerder opgedane ervaringen invloed te laten uitoefenen op het gedrag. Hieruit volgt dat al voordat een bepaalde taak is aangeleerd, informatie duurzaam in het geheugen moet zijn opgeslagen. Dit laatste is alleen uit het gedrag van de proefdieren af te leiden. Daarom zijn leren en geheugen in gedragsexperimenten onlosmakelijk met elkaar verbonden. Zonder leren valt er niets te herinneren en zonder geheugen is het onmogelijk bepaalde gedragsveranderingen duurzaam te behouden (140).

Voor het juist verlopen van leer- en geheugenprocessen moeten een aantal mechanismen aanwezig zijn. Ten eerste is dat een sensorisch systeem voor het waarnemen van informatie (bijv. het visuele systeem). Ten tweede moeten verschillende soorten informatie gekoppeld kunnen worden (bijv. een bepaald visueel patroon en het verkrijgen van voedsel), waarna opslag in het geheugen kan plaatsvinden. Het geheugenspoor is hierbij het geheel aan permanente veranderingen in neuronale interactie. Dit geheugenspoor moet vervolgens "uitgelezen" kunnen worden waarna een uitvoerend apparaat het veranderde gedrag tot stand moet kunnen brengen. Storingen in ieder van deze fasen leiden tot dezelfde uitkomst in het gedrag, namelijk een defect in leren en herinneren.

Steeds meer gegevens komen beschikbaar over welke hersenstructuren een rol spelen tijdens leerprocessen (80, 90, 135, 136, 137, 138) en welke tijdens geheugenprocessen (133, 134). Ook zijn hypothesen ontstaan omtrent de veranderingen die tijdens leren op cellulair en subcellulair niveau plaatsvinden (8, 30, 75, 76, 91). In dit proefschrift zijn deze aspecten van leren en geheugen niet nader bestudeerd.

Een ander aspect is de factor tijd in de vorming van het geheugen. Direct na een bepaalde ervaring zorgen verschillende mechanismen voor het vastleggen van de verkregen informatie. Hierbij worden verscheidene, elkaar in de tijd opvolgende fasen onderscheiden. Dit zijn achtereenvolgens het zeer-korte-termijn geheugen (<5 min), het korte-termijn geheugen (5-30 min), het midden-termijn geheugen (30-180 min) en het lange termijn geheugen (>180 min) (12, 44, 45).

Deze verschillende, in tijd gescheiden fasen zijn alleen te onderscheiden door bepaalde manipulaties met de functie van het centrale zenuwstelsel. Door het toedienen van farmaca, het veroorzaken van een electroconvulsieve shock (ECS) of cerebrale hypoxie kan een bepaalde fase uitvallen. In het gedrag van proefdieren is dan een tijdelijke of blijvende uitval te vinden van het herinneringsvermogen voor de net opgedane ervaring. Het moge duidelijk zijn dat het onderscheid tussen de verschillende termijn-geheugens afhankelijk is van de gekozen diersoort, de aard van de proefopstelling, het criterium van leren en de soort manipulatie waarmee de geheugenvorming wordt voorkomen.

Een proefopzet waarmee de geheugenfunctie voor een training van slechts één presentatie wordt onderzocht, bijvoorbeeld het meten van de latentietijd voordat een bepaalde ruimte wordt betreden (119), zal andere gegevens opleveren dan een proefopzet waarin eerst een bepaalde gedragsverandering moet optreden ten gevolge van het herhaald contact met de proefopstelling, voordat de geheugenvorming kan worden onderzocht (44, 45). In deze laatste situatie treedt al tijdens de training consolidatie van de opgedane ervaring op in een geheugenspoor. Ook de in dit proefschrift beschreven patroondiscriminatie-training valt in deze categorie leerprocessen.

Een onzekerheid in deze laatste proefopzet is dat niet kan worden aangegeven wanneer de consolidatie van het geheugenspoor plaatsvindt. Eén mogelijkheid zou zijn dat pas tijdens en na de training waarin het criterium wordt bereikt, consolidatie optreedt. Een tweede mogelijkheid is dat na iedere presentatie de opgedane ervaring wordt vastgelegd en dat het geheel van deze stukjes opgeslagen informatie uiteindelijk het gewenste, veranderde gedrag tot stand brengt. Aangezien in de patroondiscriminatie-training per dag 50 of 100 presentaties worden aangeboden, waarna één dag later opnieuw met dezelfde training wordt getest, is slechts een totaalbeeld van de consolidatie van het geheugenspoor te krijgen.

Door bestudering van het gedrag tijdens de patroondiscriminatie is bovendien moeilijk te bepalen wanneer voor het eerst sprake is van enig leereffect. Nauw verbonden hiermee is de manier waarop de gedragsveranderingen door de onderzoeker worden weergegeven. In het eerste deel van het proefschrift is de weergave beperkt tot een tweetal waarden van de patroondiscriminatie, die werden vastgesteld nadat een bepaalde gedragsverandering in ieder geval had plaatsgevonden en ook blijvend werd vertoond. Dit was het bereiken van het criterium van 90% of meer juiste keuzen op één trindag. Op dat moment werd het leerproces als voltooid beschouwd. Voor het beschrijven van de leerperiode werden 2, op dit gebied veelgebruikte waarden berekend. Deze waarden zijn het aantal onjuiste keuzen en het hiermee correlerende aantal presentaties.

Gezien de sterke correlatie tussen deze beide waarden bestaat de mogelijkheid dat het aantal onjuiste keuzen wordt beïnvloed door het aantal presentaties. Dit laatste aantal is bovendien afhankelijk van het gekozen trainprotocol. Een andere benadering van de weergave van de leerperiode kan bestaan uit het delen van het aantal onjuiste keuzen door het aantal presentaties. Het zo verkregen getal geeft een gemiddeld percentage onjuiste keuzen aan of, met andere woorden, hoeveel onjuiste keuzen er gemiddeld tijdens een bepaalde patroondiscriminatietraining per 100 presentaties worden gemaakt. Zo wordt een indruk verkregen omtrent de leerprestatie onafhankelijk van het aantal presentaties.

Beide benaderingswijzen hebben gemeen dat zij voorbijgaan aan de steeds veranderende prestaties van de konijnen tijdens opeenvolgende trindagen. Zoals in de verschillende voorbeelden van traincurves (Fig. 9, 11, 13, 15, 19) is weergegeven, trad bijna altijd een geleidelijke stijging op van de score in de discriminatietask. Tijdens het leerproces zal dus per 100 presentaties telkens een verschillend percentage onjuiste keuzen worden gevonden. Een nadeel van de weergave van de groepsprestatie in een percentage per dag is dat niet op dezelfde dag door alle konijnen het criterium werd bereikt.

De resultaten van de patroondiscriminatie trainingen zullen bovendien zijn beïnvloed door de volgorde waarin de verschillende patrooncombinaties werden aangeboden. Steeds werd begonnen met een licht/donker discriminatie gevolgd door een verticaal/horizontaal discriminatie, waarna eventueel andere patrooncombinaties volgden. De geregistreerde waarden van aantal onjuiste keuzen of aantal presentaties zouden anders kunnen zijn, wanneer de volgorde der discriminatie trainingen wordt veranderd.

De twee getallen die van het aantal onjuiste keuzen werden afgeleid, geven wel een goede indruk omtrent de stabiliteit van het geheugenspoor of de moeilijkheid van omkering van de betekenis van een patrooncombinatie. De retentie-index geeft een indruk van het eerstgenoemde en de omkerings-index kan dienen om het vermogen van konijnen te kwantificeren een verworven gedragspatroon te veranderen in het tegengestelde. Een uitspringende observatie is hierbij dat het geheugenspoor van het konijn zeer stabiel is. Smaakherkenning treedt bovendien al op jonge leeftijd op en de hier gebruikte proefopzet kan eventueel aangewend worden om postnatale rijping van het centrale zenuwstelsel te vervolgen.

De gegevens omtrent consolidatie en stabiliteit van het geheugenspoor van het konijn onder normale omstandigheden werden verzameld met het doel een diermodel te ontwikkelen waarmee de gevolgen van zuurstoftekort in het centrale zenuwstelsel gekwantificeerd zouden kunnen worden. In de ziekteleer van de mens zijn vele, vaak dramatische voorbeelden te vinden van de gevolgen van tekort aan zuurstof op lange termijn (1, 19, 39, 102, 118). Een der eersten die deze observaties maakte, was Little (88). In een lezing voor de "Obstetrical Society of London" maakte hij gewag van het optreden van spastische verlammingen, epileptische aanvallen en soms mentale retardatie op latere leeftijd, met als onderliggende oorzaak een verstoring van de zuurstofvoorziening tijdens de geboorte. Ook op oudere leeftijd kan zuurstoftekort tot ernstige uitval van cerebrale functies leiden (20). Echter, in al deze gevallen bestaat er weliswaar een uitgebreide beschrijving van de neuropathologische uitval gecombineerd met het eindstadium van het klinische beeld, omtrent de aard van de episode die dit veroorzaakte, kunnen slechts gissingen worden gedaan. Vandaar dat het niet eenvoudig is rationele maatregelen te nemen, zoals het toedienen

van farmaca, om het centrale zenuwstelsel te beschermen tegen soms onvermijdelijke perioden van zuurstoftekort (118, 144).

Brierley (22) heeft een overzicht gegeven van de verschillende mogelijkheden om in dierexperimenteel opzicht de gevolgen van zuurstoftekort na te bootsen. Uit zijn overzicht blijkt dat er eigenlijk geen diermodel is te ontwikkelen waarmee neuroanatomische beschadigingen worden veroorzaakt, zonder dat het overleven in gevaar komt. Alleen experimenten met primaten voldoen aan deze voorwaarde; deze vorm van onderzoek is echter minder geschikt vanwege onder andere kosten en zeldzaamheid van de diersoort. Vandaar dat werd gezocht naar een diermodel, waarin wel invloed van hypoxie op het centrale zenuwstelsel zou zijn te kwantificeren, zonder dat hiervoor neuroanatomische beschadigingen noodzakelijk waren.

Daar er in de literatuur veel materiaal voorhanden is aangaande door hypoxie veroorzaakte retrograde amnesie, leek het voor de hand te liggen om de invloed van hypoxie op consolidatie en stabiliteit van het geheugenspoor bij het konijn te onderzoeken. Cerebrale hypoxie kan op een aantal manieren een retrograde amnesie veroorzaken. Allereerst kan de consolidatie van het geheugenspoor worden verhinderd (60, 132). Daarbij treedt zeer vaak spontaan herstel op van de amnesie, er was met andere woorden slechts een tijdelijke amnesie aantoonbaar. Sara (120, 121) verklaarde dit door een tijdelijke stoornis in het uitlezen van het geheugenspoor, terwijl anderen (44, 45) een uitval van het midden-termijn geheugen veronderstelden.

Als methode voor het veroorzaken van hypoxie werd gekozen voor het reduceren van de partiële dampspanning van zuurstof door middel van onderdruk. Tijdens een periode van zogenaamde hypobare hypoxie is de mate van verlaging van de zuurstofspanning nauwkeurig te regelen. Bovendien is een voordeel dat de experimenten worden verricht bij gezonde, zich vrij bewegende dieren, waardoor de gegevens relevantie hebben voor de menselijke pathologie (22). Narcose, immobilisatie en/of beademing beïnvloeden namelijk de gevolgen van zuurstoftekort in de hersenen.

Tijdens de perioden van hypobare hypoxie werd geen E.E.G. afleiding verricht en ook werden geen bloedmonsters geanalyseerd omdat deze beide registraties ingrijpende gevolgen zouden hebben voor de uitvoering van het experiment. Alleen indirect is af te leiden dat een algeheel zuurstoftekort ontstond (hoofdstuk 7). Gezien het ontbreken van aanwijzingen voor het ontstaan van permanent hersenletsel (dit proefschrift, ook (22)) werd geen histologische analyse verricht van het centrale zenuwstelsel.

De in dit proefschrift gebruikte methode van hypobare hypoxie (10 minuten in de onderdruktank bij een druk van 190 mm Hg) had geen invloed op de consolidatie van het geheugenspoor voor patroondiscriminatietaken. Een mogelijkheid voor het ontbreken van een aanwijsbare retrograde amnesie kan echter gelegen zijn in de aard van de proefopzet. De leer- en geheugenfunctie werd namelijk steeds na ongeveer een dag getest. Een kortere tussentijd en/of minder presentaties per traindag kan mogelijk wel een retrograde amnesie laten ontstaan. Een tweede mogelijkheid is dat de aard van de cerebrale hypoxie niet voldoende was om te interfereren met consolidatie of stabiliteit van het geheugenspoor.

De gewenning aan een onbekende smaakstimulus werd wel vertraagd door hypobare hypoxie. Vergelijking met een door apomorphine geïnduceerde smaakaversie maakt aannemelijk dat het hier ging om een uitstel van de gewenning, een mogelijke retrograde amnesie dus. Echter conclusies gebaseerd op deze experimenten dienen met de nodige voorzichtigheid te worden getrokken. Zoals werd beschreven traden pas duidelijke effecten van hypobare hypoxie op in een toestand van aanzienlijke vochtdeprivatie. In zo'n situatie kunnen belangrijke veranderingen optreden in de afgifte van bepaalde hormonen (onder meer het antidiuretisch hormoon). Deze hormonen zouden een belangrijke invloed kunnen uitoefenen op de consolidatie van aangeleerd gedrag of op het tot uitdrukking komen hiervan (147).

Bovendien bleek uit observaties, dat konijnen onder de beschreven omstandigheden aanzienlijk minder voedsel gebruikten. De mogelijk optredende uitputting van energievoorraden (met name glucose) kan de invloed van zuurstoftekort op het centrale zenuwstelsel beïnvloeden (22, 126, 144). Uit de experimenten betreffende de retrograde amnesie kan worden

geconcludeerd, dat deze verschijnselen in ieder geval bij het konijn niet zodanig betrouwbaar door hypobare hypoxie kunnen worden opgewekt, dat een beschermende werking van farmaca hiermee kan worden getest.

Een belangrijk bezwaar dat in het algemeen geldt voor het door hypoxie opwekken van retrograde amnesie in gezonde, zich vrij bewegende dieren, is dat niet met zekerheid gesteld kan worden dat de beschreven verschijnselen primair ontstaan door cerebrale hypoxie. Zoals door van Hof werd benadrukt (65), is de zuurstofvoorziening van neuronale elementen afhankelijk van een aantal schakels. Allereerst is dat de partiële dampspanning van zuurstof in de ingeademde lucht. Dan komt de gasuitwisseling en doorbloeding van de long die het arteriële zuurstofgehalte bepalen. Het cardiovasculaire systeem heeft vervolgens belangrijke eigenschappen, zoals verhoging van de hartfrequentie en vasodilatatie of vasoconstrictie, waarmee het zuurstofaanbod aan de cerebrale extracellulaire vloeistof kan worden beïnvloed. De zuurstofspanning in deze laatste vloeistof bepaalt uiteindelijk het aanbod van zuurstof aan neuronen.

Theoretisch kan de zuurstofvoorziening van de hersenen tijdens elke van de hiervoor beschreven stappen worden verstoord. Zoals in de literatuur is beschreven (10, 25, 33, 78) heeft hypoxie uitgebreide cardiovasculaire veranderingen tot gevolg bij het konijn. Ook op de afdeling Fysiologie I van de Erasmus Universiteit Rotterdam is inmiddels door J.H. Reuter aangetoond dat deze veranderingen optreden onder de gebruikte proefomstandigheden.

Zoals werd beschreven heeft hypobare hypoxie een zeer duidelijke en goed kwantificeerbare invloed op het gedrag van konijnen tijdens het begin van een patroondiscriminatie-training en van een drinkperiode. Hiermee is de snelheid van herstel na hypobare hypoxie goed te bepalen. De vraag is echter of deze invloed van primair cerebrale aard is of dat andere stappen in de zuurstofvoorziening worden aangetast, waardoor secundair cerebrale functiestoornissen ontstaan. Deze vraag is niet alleen van academisch belang, want inmiddels wordt door de farmaceutische industrie in toenemende mate gebruik gemaakt van dergelijke methodieken in het

onderzoek naar de bescherming van cerebrale structuren tegen zuurstoftekort (2, 4, 29). Nadere analyse naar de aard van deze latentietijd is nodig voordat gesproken kan worden van een tijdelijke stoornis in het uitlezen van het geheugenspoor.

Indien uit gedragsfysiologische experimenten zou blijken dat een bepaald farmacon beschermt tegen retrograde amnesie dan dient met name de cardio-vasculaire protectie van deze stof nauwkeurig te worden onderzocht. Op theoretische gronden kan nog een tweede bezwaar worden aangevoerd tegen de bescherming tegen retrograde amnesie. Tijdens de processen waarbij consolidatie van het geheugenspoor plaatsvindt, speelt, zoals eerder genoemd, een actief Ca^{++} transport een centrale rol. Echter, wanneer tijdens hypoxie uiteindelijk de functie van de neuronen aangetast dreigt te raken, dan treedt een sterke verhoging van de intracellulaire Ca^{++} -spiegel op (122, 126, 148, 149). Een farmacon dat de instroming van Ca^{++} in de cel verhindert, zou dus tegen deze dreigende cellulaire destructie beschermen. Ditzelfde farmacon zou echter niet beschermen tegen het optreden van retrograde amnesie: het zou zelfs op zichzelf al een retrograde amnesie kunnen veroorzaken.

Om relevant te zijn voor de menselijke pathologie dient een farmacon bestaande geheugensporen te beschermen, dan wel bescherming te bieden van het neuronale systeem waarin deze geheugensporen in beginsel worden gevormd. In geen enkele klinische situatie wordt namelijk verlangd dat nieuwe leerprocessen plaatsvinden direct voor of tijdens hypoxie. Daarbij komt dat in de menselijke pathologie hersenletsel door zuurstoftekort vaak ontstaat als gevolg van een combinatie van factoren, zoals uitgeputte energievoorraden, een slechte bloeddoorstroming of een laag arteriële zuurstofgehalte. Hypobare hypoxie in het gebruikte diermodel benadrukt alleen dit laatste aspect en limiteert daarbij de mogelijkheid tot het trekken van verregaande conclusies.

Een aspect dat in dit proefschrift niet aan de orde is geweest, is de acquisitie van bepaalde taken geruime tijd nadat het centrale zenuwstelsel langdurig hypoxisch is gemaakt (69, 95). Wellicht is dit een voor de toekomst veelbelovende onderzoeksrichting waarmee de gevolgen van hypoxie

onder controleerbare en reproduceerbare omstandigheden gekwantificeerd kunnen worden, zodat hiermee een bruikbaar diermodel kan worden ontwikkeld. Daarmee kan dan tevens de invloed van de leeftijd op de gevolgen van zuurstoftekort worden bestudeerd. Voor het bestaan van dergelijke leeftijdsinvloeden zijn totnog toe met behulp van ablatie-experimenten bij het konijn weinig aanwijzingen verkregen (130). Desalniettemin zou het zeer de moeite waard zijn klinische aanwijzingen betreffende een grotere weerstand van jonge individuen tegen cerebrale hypoxie in dier-experimenteel onderzoek nader te staven.

S A M E N V A T T I N G

Zuurstoftekort in het centrale zenuwstelsel kan leiden tot permanente uitval van cerebrale functies. Bij het onderzoek op dit gebied zijn nauwelijks betrouwbare diermodellen voorhanden, waarmee met name de chronische gevolgen van zuurstoftekort kunnen worden gekwantificeerd. Er bestaat een uitgebreide literatuur over de gevolgen van hypoxie op het aanleren van bepaalde taken door proefdieren. Het hierin beschreven optreden van retrograde amnesie is echter allerm minst een onomstreden zaak.

Tijdens het aanleren van een bepaalde taak wordt een zogenaamd geheugenspoor gevormd. Dit is het geheel van duurzame veranderingen in neuronale interactie waarmee de verworven ervaring wordt vastgelegd. Aan dit proef-schrift ligt de vraag ten grondslag of hypoxie bij het konijn op enige wijze kan interfereren met consolidatie of stabiliteit van het geheugenspoor. Daartoe werden eerst gegevens verzameld over deze aspecten van het leergedrag onder normale omstandigheden. Twee vormen van leergedrag werden daarbij onderzocht, namelijk het patroondiscrimineren enerzijds en smaakneofobie en smaakaversie anderzijds.

In hoofdstuk 3 werd beschreven dat de consolidatie van het geheugenspoor voor helderheids- en patroondiscriminatie op een vergelijkbare wijze verliep. Als maat voor de consolidatie van het geheugenspoor kunnen zowel het aantal presentaties- als het aantal onjuiste keuzen tot en met het bereiken van het criterium worden gebruikt. Een éénmaal geconsolideerd geheugenspoor bleef gedurende tenminste vijf maanden bestaan (Hoofdstuk 4). Ook na een extinctieprocedure bleek het geheugenspoor voor het onderscheid tussen de betrokken patronen nog intact te zijn (Hoofdstuk 5).

Tijdens een zogenaamde positiediscriminatie werd onderzocht hoe de consolidatie van het geheugenspoor verliep, wanneer de beloning bij twee identieke patronen achter het rechter luik was te verkrijgen en bij twee andere, identieke patronen achter het linker luik. In hoofdstuk 6 bleek

dat voor het aanleren van een dergelijke discriminatie veel meer presentaties nodig waren dan voor het aanleren van bijvoorbeeld een verticaal/horizontaal discriminatie. Bovendien bleek dat na omkering van de positie van de beloning het leerproces van de tegengestelde discriminatie aanzienlijk langer duurde.

Voor het veroorzaken van hypoxie werd in alle gevallen hypobare hypoxie gebruikt. Daartoe werden konijnen gedurende tien minuten in een onderdruktank geplaatst waarin een druk heerste van 190 mm Hg. Hypobare hypoxie direct na training met een onbekende patrooncombinatie veroorzaakte geen retrograde amnesie bij de volgende training 24 uur later (Hoofdstuk 8). Ook wanneer hypobare hypoxie aan de training met de onbekende patrooncombinatie voorafging, trad geen vertraging op van de consolidatie van het geheugenspoor (Hoofdstuk 9).

Een éénmaal geconsolideerd geheugenspoor bleek ook na hypobare hypoxie stabiel. Er bestond echter wel een zeer duidelijke latentietijd voordat met het patroondiscrimineren werd begonnen (Hoofdstuk 10). Na herhaling van de hypoxieperiode twee dagen later bleek de latentietijd aanzienlijk te zijn afgenomen. Deze afname duidt op een snelle adaptatie aan de hypobare hypoxie, die echter niet noodzakelijkerwijs van cerebrale origine behoeft te zijn.

Voor het onderzoek betreffende smaakneofobie en smaakaversie werd een proefopzet ontwikkeld, waarbij konijnen gedurende een beperkte periode per dag konden drinken. De duur van de drinkperiode was veertig of twintig minuten. Onder deze omstandigheden stabiliseerde de dagelijkse opname van water zich. Na bepaling van de referentiewaarde van de dagelijkse vochtopname werd een onbekende smaakstimulus om de dag aangeboden (Hoofdstuk 12).

Introductie van de onbekende smaakstimulus veroorzaakte een significant afgenomen vochtopname. Dit verschijnsel staat bekend als smaakneofobie. De neofobische reactie verdween geleidelijk, zoals viel af te leiden uit de stijging van de gemiddelde vochtopname op de achtereenvolgende dagen (Hoofdstuk 13). Tijdens de gehele drinkperiode op de eerste dag van het

contact met de onbekende smaakstimulus was de gemiddelde vochtopname verlaagd (Hoofdstuk 15). Gewenning was pas 2 dagen later aantoonbaar.

De kenmerkende neofobische reactie van de gebruikte smaakstimulus - appelsap - bleek te worden veroorzaakt door de combinatie van de hierin opgeloste suikers en appelzuur (Hoofdstuk 14). Wanneer het geheugenspoor voor een onbekende smaakstimulus eenmaal was geconsolideerd tijdens een eerste gewenningsperiode, dan was de neofobische reactie na 22 dagen duidelijk afgenomen. Ook een drie weken durend contact met appelsap na de geboorte leidde tot een significante vermindering van de neofobische reactie (Hoofdstuk 16).

Een duidelijke smaakaversie kon bij konijnen worden opgewekt door het drinken van de onbekende smaakstimulus drie maal te laten volgen door een intraperitoneale injectie met apomorphine (3 mg/kg lichaamsgewicht). Deze aversieve reactie kwam tot uiting in een blijvend verlaagde vocht-opname. Bovendien lijkt een voldoende mate van neofobie voorwaarde te zijn voor het ontstaan van een smaakaversie (Hoofdstukken 17 en 18).

Hypobare hypoxie na de drinkperiode vertraagde het verdwijnen van de neofobische reactie. Nadat konijnen niet langer werden blootgesteld aan hypobare hypoxie trad alsnog een normale gewenning op. Retrograde amnesie is een waarschijnlijke verklaring voor deze observaties, zoals in hoofdstuk 19 werd beschreven. De gevolgen van hypobare hypoxie waren duidelijker aan te tonen bij een drinkperiode van twintig minuten dan bij veertig minuten. Bij de interpretatie van gegevens uit dit soort van onderzoek dient rekening gehouden te worden met de toestand van vochtdeprivatie.

Wanneer hypobare hypoxie aan een drinkperiode voorafging dan was de totale wateropname minder. Bovendien ontstond ook een duidelijke latentietijd voordat met het drinken van water werd begonnen. Met name na de eerste expositie aan hypobare hypoxie was het patroon van de vochtopname gedurende de veertig minuten durende drinkperiode veranderd. De verkorting van de latentietijd en terugkeer van het normale drinkpatroon duiden op een snelle adaptatie van konijnen aan hypobare hypoxie (Hoofdstuk 20).

Bij het konijn is retrograde amnesie niet consistent aan te tonen. Behalve dat, kan ook op theoretische gronden worden gesteld dat bescherming tegen het optreden van retrograde amnesie na hypoxie geen goede methode is om farmaca te testen. Bovendien bleek er een snelle adaptatie aan hypobare hypoxie op te treden. Waar deze adaptatie optrad, was niet met zekerheid te zeggen; cardiovasculaire reacties spelen echter een belangrijke rol. Ook bij een eventuele bescherming van farmaca tegen het optreden van een latentietijd na een eerste expositie aan hypobare hypoxie, dient rekening gehouden te worden met de mogelijkheid dat andere orgaan-systemen worden beschermd (Hoofdstuk 21).

S U M M A R Y

In human pathology it is a well known observation that a period of cerebral hypoxia can lead to permanent loss of cerebral functions. However, animal models with which the long-term consequences can be quantified reliably hardly exist. Many reports are available concerning the effect of hypoxia on memory consolidation in animals. In these reports, contradicting results can be found with regard to the appearance of retrograde amnesia as a disruptive consequence of hypoxia on memory consolidation.

In the course of learning a certain task a so-called memory trace is formed. The memory trace is defined as the sum of all long-term changes in neural interaction in the central nervous system. In the memory trace the acquired experience is consolidated. At the root of the present thesis study lies the question whether hypoxia can interfere in any way with consolidation or stability of the memory trace in the rabbit. In order to establish a possible influence it was necessary to evaluate memory processes under normal conditions. Two types of learning behaviour were investigated. The first was a pattern discrimination habit and the second a taste-neophobia training paradigm.

In chapter 2 the consolidation of the memory trace concerning a brightness discrimination was compared with that of a pattern discrimination using both trials and errors to criterion to measure the process of consolidation. It was concluded that consolidation in both tasks developed in a similar way. Once a memory trace was established it remained stable during at least five months (chapter 3). Even after extinction training, the memory trace of the original discrimination problem could be re-established almost immediately (chapter 4).

A second paradigm involving the use of patterned stimuli was a position discrimination. In this task the position of the reward (left or right) depended on the orientation (horizontal versus vertical) of two identical

striated patterns. In chapter 5 it was concluded that this kind of pattern discrimination is more difficult to master than a discrimination task in which contrasting orientations of striation (horizontal versus vertical) are presented simultaneously. Reversal of the meaning of the patterns in the position discrimination resulted in a prolonged learning process compared with the original consolidation period.

Hypobaric hypoxia was the method of hypoxia used in all experiments. To achieve this, rabbits were placed in a decompression chamber for ten minutes. The pressure was lowered to 190 mm Hg. Hypobaric hypoxia immediately following each session of 50 trials during pattern discrimination training did not result in retrograde amnesia 24 hours later (chapter 7). Also, if hypobaric hypoxia preceded each training session, no impairment of consolidation of the memory trace could be demonstrated (chapter 8).

Once the training criterion had been reached, the memory trace could not be disrupted by hypobaric hypoxia. However, immediately after hypobaric hypoxia a marked latency time was found before rabbits started responding in the testing situation (chapter 9). When the period of hypoxia was repeated two days later the latency time was reduced considerably. This reduction appears to be the result of a rapid adaptation to hypobaric hypoxia, which does not necessarily originate in the central nervous system.

To investigate the patterns of taste-neophobia and taste-aversion in the rabbit a paradigm was developed in which the animals were allowed to drink for no more than twenty or forty minutes per day. Under these circumstances, the daily water-intake showed little day-to-day variations. After establishing the reference-intake an unfamiliar taste stimulus was presented every other day.

Introduction of the unfamiliar taste stimulus resulted in a significantly decreased fluid intake. This reaction, which is called neophobia, attenuated on the subsequent days (chapter 12). Attenuation could not be demonstrated in the course of the first drinking period in which the unfamiliar taste stimulus was presented, but appeared two days later (chapter 14).

The characteristic neophobic reaction of rabbits towards apple-juice, which was the unfamiliar taste stimulus used in nearly all experiments, was created by the combination of the dissolved sugars and malic acid (chapter 13). After a period of attenuation, in which the memory trace of the taste stimulus was consolidated, the neophobic reaction was much less when the taste stimulus was re-presented 22 days later. Young rabbits who had had a three-weeks lasting daily contact with apple-juice after birth, also showed less neophobia after an interval of six weeks (chapter 15).

A strong taste-aversion could be elicited in the rabbit by combining the presentation of apple-juice three times with an intraperitoneal injection of apomorphine (3 mg/kg body weight). The aversive reaction was apparent as a permanently decreased intake of apple-juice (chapter 16). In chapter 17 it was concluded that a significant neophobic reaction may be necessary before taste-aversion develops.

The attenuation of neophobia was prevented by hypobaric hypoxia. However, when rabbits were no longer exposed to hypoxia, they showed normal attenuation. As was argued in chapter 18, retrograde amnesia is a probable explanation of these observations. The effects of hypoxia were more apparent when the time of drinking was reduced to twenty minutes per day. However, when interpreting these results the level of fluid deprivation must be kept in mind.

If hypobaric hypoxia was followed immediately by registration of the water drinking behaviour, the totale intake was decreased. A marked latency time was noted before the animals started to drink. This effect was similar to that seen in a pattern discrimination task. Especially after the first period of hypobaric hypoxia the drinking behaviour was changed. The decrease of latency time and return of the normal drinking pattern suggest a rapid adaptation of rabbits to hypobaric hypoxia (chapter 19).

In conclusion retrograde amnesia caused by hypobaric hypoxia could not be elicited consistently in rabbits. On theoretical grounds it is also unlikely that protection against hypoxia-induced retrograde amnesia is a

valuable method of testing pharmacological protection of cerebral tissue. Besides this, rabbits appeared to adapt rapidly to hypobaric hypoxia. It could not be ascertained where adaptation took place but it is likely that altered cardiovascular responses play a major role. If pharmacological protection against the development of a latency time after the first exposure to hypobaric hypoxia is to be investigated, the possibility must be included that other systems, playing a role in the oxygen supply to the brain, are also protected (chapter 20).

L I T E R A T U U R

1. ADAMS, J.H. Patterns of cerebral infarction, *Scott. Med. J.*, 12 (1967) 339-348.
2. AMERY, W.K. Brain hypoxia in migraine: Pathophysiologic and therapeutic implications, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2(suppl. 1)(1982) S62-S64.
3. ARCHER, T. en SJÖDEN, P.P. Neophobia in taste-aversion conditioning. Individual differences and effects of contextual changes, *Physiol. Psychol.*, 7 (1979) 364-369.
4. ASHTON, D., CLINCKE, G. en WAUQUIER, A. Amnesic effects of hypoxia reduced by flunarizine pre-treatment. (1980) Preclinical Research Report R 14 950/18, Janssen Research Products Information Service.
5. BALDWIN, S.A. en SOLTYSIK, S.S. Acquisition of classical conditioned defensive responses in goats subjected to cerebral ischaemia, *Nature*, 206 (1965) 1011-1013.
6. BALDWIN, S.A. en SOLTYSIK, S.S. The effect of cerebral ischaemia, resulting in loss of EEG, on the acquisition of conditioned reflexes in goats, *Brain Res.*, 2 (1966) 71-84.
7. BALDWIN, S.A. en SOLTYSIK, S.S. The effect of cerebral ischaemia or injection of methohexitone on short term memory in goats, *Brain Res.*, 16 (1969) 105-120.
8. BÄR, P.R., SCHOTMAN, P., GISPEN, W.H., TIELEN, A.M. en LOPES DA SILVA, F.H. Changes in synaptic membrane phosphorylation after tetanic stimulation in the dentate area of the rat hippocampal slice, *Brain Res.*, 198 (1980) 478-484.
9. BAUER, D.J. The slowing of heart rate produced by clamping of the umbilical cord in foetal sheep, *Proceed. Physiol. Soc.*, (1937) 25P-27P.
10. BAUER, D.J. The effect of asphyxia upon the heart rate of rabbits at different ages, *J. Physiol.*, 93 (1938) 90-103.
11. BAUER, D.J. Vagal reflexes appearing in asphyxia in rabbits at different ages, *J. Physiol.*, 95 (1939) 187-202.
12. BENOWITZ, L. en MAGNUS, J.G. Memory storage processes following one-trial aversive conditioning in the chick, *Behav. Biol.*, 8 (1973) 367-380.
13. BERNSTEIN, I.L. Learned taste aversions in children receiving chemotherapy, *Science*, 200 (1978) 1302-1303.
14. BEST, M.R. en GEMBERLING, G.A. Role of short-term processes in the conditioned stimulus preexposure effect and the delay of reinforcement gradient in long-term taste-aversion learning, *J. Exp. Psychol.: Anim. Behav. Proc.*, 3 (1977) 253-263.

15. BLAGBOROUGH, A., BRIERLEY, J.B. en NICHOLSON, A.N. Behavioural and neurological disturbances associated with hypoxic brain damage, *J. Neurol. Sci.*, 18 (1973) 475-488.
16. BLAGBOROUGH, A., BRIERLEY, J.B. en NICHOLSON, A.N. Alternation behaviour in the rhesus monkey after profound hypoxia, *J. Physiol. (Lond.)* 232 (1973) 106P-108P.
17. BOLLES, R.C. en RAPP, H.M. Readiness to eat and drink. Effect of stimulus conditions, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 60 (1965) 93-97.
18. BRAKE, S.C. Suckling infant rats learn a preference for a novel olfactory stimulus paired with milk delivery, *Science*, 211 (1981) 506-508.
19. BRIERLEY, J.B. Systemic hypotension- Neurological and neuropathological aspects, *Mod. Trends Neurol.*, 5 (1970) 164-177.
20. BRIERLEY, J.B., FREELAND, S.A. en NICHOLSON, A.N. Behavioural study of brain damage following profound hypoxia, *J. Physiol. (Lond.)* 211 (1970) 48P.
21. BRIERLEY, J.B., MELDRUM, B.S. en BROWN, A.W. The threshold and neuropathology of cerebral 'anoxic-ischaemic' cell change, *Arch. Neurol.*, 29 (1973) 367-374.
22. BRIERLEY, J.B. Experimental hypoxic brain damage, *J. Clin. Path. (suppl.)* 30 (1977) 181-187.
23. BRYANT, J.H. en THOMPSON, R. The effect of anoxia on the acquisition of a discrimination habit, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 51 (1958) 202-204.
24. BURESOVA, O. en BURES, J. Post-ingestion interference with brain function prevents attenuation of neophobia in rats, *Behav. Brain Res.*, 1 (1980) 299-312.
25. CAMPBELL, A.G.M., CROSS, K.W., DAWES, G.S. en HYMAN, A.J. A comparison of air and O₂ in a hyperbaric chamber or by positive pressure ventilation in the resuscitation of newborn rabbits, *J. Pediat.*, 2 (1966) 153-163.
26. CAPRETTA, P.J. Establishment of food preferences by exposure to ingestive stimuli early in life. In: L.M. Barker, M.R. Best en M. Domjan (Eds.), *Learning Mechanisms in Food Selection*, Baylor University Press, 1977, pp 99-121.
27. CASSIN, S., SWANN, H.G. en CASSIN, B. Respiratory and cardiovascular alterations during the process of anoxic death in the newborn, *J. Appl. Physiol.*, 15 (1960) 249-252.
28. CIZEK, J.C. Relationship between food and water ingestion in the rabbit, *Am. J. Physiol.*, 201 (1961) 557-566.
29. CLINCKE, G. en WAUQUIER, A. Protective effects of etomidate vs thiopental in hypobaric hypoxia in mice (1980) Preclinical Research Report R 16 659/17, Janssen Research Products Information Service.
30. CRICK, F. Do dendritic spines twitch? *Trends in Neurosci.(TINS)*, 5 (1982) 44-46.

31. D'ANDREA, J.A. en KESNER, R.P. The effects of ECS and hypoxia on information retrieval, *Physiol. Behav.*, 11 (1973) 747-752.
32. DAVID-REMACLE, M. Attenuation of anoxia-induced retrograde amnesia in rats by a pretraining placebo injection, *Physiol. Behav.*, 10 (1973) 693-696.
33. DAWES, G.S., HANDLER, J.J. en MOTT, J.C. Some cardiovascular responses in foetal, new-born and adult rabbits, *J. Physiol.*, 139 (1957) 123-136.
34. DAWES, G.S. Foetal en Neonatal Physiology. A Comparative Study of the Changes at Birth, (1968) G.S. Dawes (Ed.). Year Book Medical Publishers, Chicago, pp 141-222.
35. DILL, D.B., ADOLPH, E.F. en WILLER, C.G. (Eds.) Handbook of Physiology: Section 4: Adaptation to the Environment, Waverly Press, Inc., 1964, Hoofdstukken 19, 52, 54 en 55.
36. DOGTEROM, G.J. en HOF, M.W. van Does hypoxia have an effect on attenuation of taste neophobia in the rabbit? *Behav. Brain Res.*, 8 (1983) 240.
37. DOMJAN, M. Attenuation and enhancement of neophobia for edible substances. In: L.M. Barker, M.R. Best en M. Domjan (Eds.), *Learning Mechanisms in Food Selection*, Baylor University Press, 1977, pp 151-179.
38. DOMJAN, M. Effects of the intertrial interval on taste-aversion learning in rats, *Physiol. Behav.*, 25 (1980) 17-25.
39. FAHN, S., DAVIS, N.D. en ROWLAND, L.P. (Eds.) *Cerebral Hypoxia and its Consequences*, Adv. Neurol. Vol. 26, Raven Press, New York, 1979.
40. FLOHR, H., HOLSCHER, H., TROCKEL, C. en MIELKE, M. Effect of hypercapnia on hypoxia induced retrograde amnesia, *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)* 26 (1976) 1243-1244.
41. FLOHR, H. Hypoxia-induced retrograde amnesia. In: M.A.B. Brazier (Ed.) *Brain Mechanisms in Memory and Learning; From the Single Neuron to Man*, Raven Press, New York, 1977, pp 277-291.
42. FRANK, R.G. Jr. *Harvey and the Oxford Physiologists*, University of California Press, 1980, pp 127-163.
43. FRIEDER, B. en ALLWEIS, C. Delayed post-hypoxic transient amnesia is not associated with electrical brain seizures, *Physiol. Behav.*, 29 (1982) 1059-1064.
44. FRIEDER, B. en ALLWEIS, C. Prevention of hypoxia-induced transient amnesia by post-hypoxic hyperoxia, *Physiol. Behav.*, 29 (1982) 1065-1069.
45. FRIEDER, B. en ALLWEIS, C. Memory consolidation: Further evidence for the four phase model from the time course of diethyldithiocarbamate and ethacrinic acid amnesias, *Physiol. Behav.*, 29 (1982) 1071-1075.
46. GARCIA, J. en KOELLING, R.A. Relation of cue to consequence in avoidance learning, *Psychon. Sci.*, 4 (1966) 123-124.

47. GARCIA, J. en HANKINS, W.G. On the origin of food aversion paradigms. In: L.M. Barker, M.R. Best en M. Domjan (Eds.) *Learning Mechanisms in Food Selection*, Baylor University Press, 1977, pp 3-22.
48. GARDINER, R.M. Cerebral blood flow and the oxidative metabolism during hypoxia and asphyxia in the newborn calf and lamb, *J. Physiol. (Lond.)* 305 (1980) 357-376.
49. GELLERMAN, L.W. Chance orders of alternating stimuli in visual discrimination experiments, *J. Genet. Psychol.*, 42 (1933) 206-208.
50. GERARD, R.W. Biological roots of Psychiatry, *Science*, 122 (1955) 225-230.
51. GINSBERG, M.D., REIVICH, M. en GIANDOMENICO, A. Regional brain metabolism following transient cerebral ischemia, *Neurology (Minneap.)* 27 (1977) 359.
52. GIURGEA, C., LEFEVRE, D., LESCRENIER, C. en DAVID-REMACLE, M. Pharmacological protection against hypoxia induced amnesia in rats, *Psychopharmacologica (Berl.)* 20 (1971) 160-168.
53. GODFRAIND, T. Mechanisms of action of calcium entry blockers. In: *Calcium Entry Blockers and the Cardiovascular System: Federation Proceedings*, 40 (1981) pp 2866-2871.
54. GROOT, D. de en VRENZEN, G. Postnatal development of synaptic contact zones in the visual cortex of rabbits, *Brain Res.*, 147 (1978) 362-369.
55. GUSTAVSON, C.R. Comparative and field aspects of learned food aversions. In: L.M. Barker, M.R. Best en M. Domjan (Eds.) *Learning Mechanisms in Food Selection*, Baylor University Press, 1977, pp 23-43.
56. GUYTON, A.C. (Ed.) *Textbook of Medical Physiology*, 6th edition, Saunders Company, 1981, pp 542-546.
57. HAREL, S., WATANABE, K., LINKE, J. en SCHAIN, R.J. Growth and development of the rabbit brain, *Biol. Neonate*, 21 (1972) 381-399.
58. HARREVELD, A. van Effect of cerebral asphyxiation on a well established conditioned reflex, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 60 (1965) 299-302.
59. HARREVELD, A. van REUTER, J.H. en HOF, M.W. van Pattern discrimination after cerebral asphyxiation in the rabbit. In: M.W. van Hof en G. Mohn (Eds.) *Functional Recovery from Brain Damage*, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1981, pp 115-119.
60. HAYES, K.J. Anoxic and convulsive amnesia in rats, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 46 (1953) 216-217.
61. HEATH, D. en WILLIAMS, D.R. (Eds.) *Man at High Altitude*. 2nd edition, Churchill Livingstone, 1981.
62. HOF, M.W. van Discrimination between striated patterns of different orientation in the rabbit, *Vision Res.*, 6 (1966) 89-94.
63. HOF, M.W. van en WIERSMA, C.A.G. The angular threshold of discrimination for striated patterns of different orientation in the rabbit, *Vision Res.*, 7 (1967) 265-270.

64. HOF, M.W. van Development and recovery from brain damage. In: K.J. Connolly en H.R. Precht1 (Eds.) *Maturation and Development: Biological and Psychological Perspectives. Clinics in Developmental Medicine* no 77'78. Spastics International Medical Publications London, Philadelphia, 1981, pp 186-196.
65. HOF, M.W. van Behavioural effects of brain hypoxia in animals. In: A. Wauquier, M. Borgers en W.K. Amery (Eds.) *Protection of Tissues against Hypoxia*, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1982, pp 237-246.
66. HOF, M.W. van, CHOW, K.L. en MARK, F. van der Movement discrimination in the rabbit, *Behav. Brain Res.*, 8 (1983) 411-414.
67. HOF, M.W. van, HOF-van DUIN, J. van en HOBBELEN, J.F. Visual discrimination after bilateral removal of the visual cortex in the rabbit, *Behav. Brain Res.*, 9 (1983) 257-262.
68. HOF, M.W. van en Hof-van Duin, J. van The contribution of the rewarded and the unrewarded stimulus in two-choice pattern discrimination in the rabbit, 1983, submitted *Behav. Brain Res.*
69. HOF, M.W. van en WILDERVANCK DE BLECOURT, E.M.W. Early brain damage due to hypoxia. In: C.R. Almli en S. Finger (Eds.) *Early Brain Damage: Animal Models and Clinical Observations*, Academic Press, verschijnt in 1984.
70. HOFF, J.T. Resuscitation in focal brain ischemia, *Crit. Care Med.*, 6 (1978) 245-253.
71. HOGAN, J.A. The ontogeny of food preferences in chicks and other animals. In: L.M. Barker, M.R. Best en M. Domjan (Eds.) *Learning Mechanisms in Food Selection*, Baylor University Press, 1977, pp 71-97.
72. JEEVES, M.A. en WINEFIELD, A.H. Discrimination-reversal skills in squirrel monkeys: The reversal index and reversal acquisition ratio compared. *Psychon. Sci.*, 14 (1969) 221-223.
73. KALAT, J.W. en ROZIN, P. "Learned safety" as a mechanism in long-delay taste-aversion learning in rats, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 2 (1973) 198-207.
74. KALAT, J.W. Status of "learned safety" or "learned noncorrelation" as a mechanism in taste-aversion learning. In: L.M. Barker, M.R. Best en M. Domjan (Eds.) *Learning Mechanisms in Food Selection*, Baylor University Press, 1977, pp 273-293.
75. KANDEL, E.R. Calicum and the control of synaptic strength by learning, *Nature*, 293 (1981) 697-700.
76. KANDEL, E.R. Environmental determinants: Early experience and learning. In: E.R. Kandel en J.H. Schwartz (Eds.) *Principles of Neural Science*, Elsevier North Holland, Amsterdam, 1981, pp 623-632.
77. KIEFER, S.W., RUSINIAK, K.W. en GARCIA, J. Vagotomy facilitates extinction of conditioned taste-aversions in rats, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 95 (1981) 114-122.

78. KORNER, P.J. en EDWARDS, A.W.T. The immediate effects of acute hypoxia on the heart rate, arterial pressure, cardiac output and ventilation of the unanaesthetised rabbit, *Quart. J. Exp. Physiol.* XLV (1969) 113-122.
79. KRANE, R.V., SINNAMON, H.M. en THOMAS, G.J. Conditioned taste-aversions and neophobia in rats with hippocampal lesions, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 90 (1976) 680-693.
80. KUPFERMANN, I. Learning. In: E.R. Kandel en J.H. Schwartz (Eds.) *Principles of Neural Science*, Elsevier North-Holland, 1981, pp 570-579.
81. KURZ, E.M. en LEVITSKY, D.A. Novelty of contextual cues in taste-aversion learning, *Anim. Learn. Behav.*, 10 (1982) 229-232.
82. LAZRIEV, I.L. SVANIDZE, I.K., TSITSISHVILLA, A.Sh. en DZAMOEVA, E.J. Effect of circulatory hypoxia (ischemia) on fine structure of neurons and synapses in the rabbit cortex, *Neuropath. Pol.*, 17 (1979) 351-368.
83. LEDWITH, M.A. The effects of hypoxia on performance. Thesis study. (1968) Dept. of Psychology, University of Adelaide.
84. LEVERE, T.E., DAVIS, N. en GONDER, L. Recovery of function after brain damage: Toward understanding the deficit, *Physiol. Psychol.*, 7 (1979) 317-326.
85. LEWIS, D.J., MILLER, R.R. en MISANIN, J.R. Control of retrograde amnesia, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 66 (1968) 48-52.
86. LEWIS, D.J., MISANIN, J.R. en MILLER, R.R. Recovery of memory following amnesia, *Science*, 220 (1968) 704-705.
87. LEWIS, D.J. Sources of experimental amnesia, *Psychol. Rev.*, 76 (1969) 461-472.
88. LITTLE, W.J. On the influence of abnormal parturition, difficult labor, premature birth and asphyxia neonatorum on the mental and physical condition of the child, especially in relation to deformities, *The Lancet*, 2 (1861) 378-380.
89. LOGUE, A.W. Taste-aversion and the generality of the laws of learning, *Psychol. Bull.*, 86 (1979) 276-296.
90. LOPES DA SILVA, F.H. en ARNOLDS, D.E.A. Physiology of the hippocampus and related structures, *Ann. Rev. Physiol.*, 40 (1978) 185-216.
91. LOPES DA SILVA, F.H., BÄR, P.R., TIELEN, A.M. en GISPEN, W.H. Changes in membrane phosphorylation correlated with long-lasting potentiation in rat hippocampal slices. In: W.H. Gispen en A. Routtenberg (Eds.) *Brain Phosphoproteins* (Progress in Brain Research, vol. 56), Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, pp 339-346.
92. LOPES DA SILVA, F.H. Het geheugenspoor: Een neuropsychologisch doolhof, Oratie, 1982, Universiteit van Amsterdam.
93. LUBOW, R.E., RIFFIN, B. en Alek, M. The context effect: The relationship between stimulus preexposure and environmental preexposure determines subsequent learning, *J. Exp. Psychol.: Anim. Behav. Proc.*, 2 (1976) 38-47.

94. MARK, F. van der en MEYER, J.H.C. Automatic control of installations for experiments relating to physiological research of the visual system. *Comput. Progr. Biomed.*, 4 (1974) 35-41.
95. MEIER, G.W. en BUNCH, M.E. The effects of natal anoxia upon learning and memory at maturity, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 43 (1950) 436-441.
96. MILGRAM, N.W., KRAMES, L. en ALLOWAY, T. (Eds.) *Food Aversion Learning*, Plenum Press, New York, 1977.
97. MILLER, R.R. en SPRINGER, A.D. Amnesia, consolidation and retrieval, *Psychol. Rev.*, 80 (1973) 69-79.
98. MILLER, R.R. en HOLZMAN, A.D. Neophobias and conditioned taste-aversions in rats following exposure to novel flavors, *Anim. Learn. Behav.*, 9 (1981) 89-100.
99. MILNER, B., CORKINS, S. en TEUBER, H.L. Further analysis of the hippocampal amnesic syndrome: 14 year follow-up study, *Neuropsychologia* (Oxford) 6 (1968) 215-234.
100. MORELLI, M., PORCEDDU, A.L. en DI CHIARA, G. Lesions of substantia nigra by kainic acid: Effects on apomorphine-induced stereotyped behaviour, *Brain Res.*, 191 (1980) 67-78.
101. MOSSMAN, K.L. en HENKIN, R.J. Radiation-induced changes in taste acuity in cancer patients, *Int. J. Rad. Onc. Biol. Phys.*, 4 (1978) 663-670.
102. MYERS, R.E. Two patterns of perinatal brain damage and their conditions of occurrence, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 112 (1972) 246-276.
103. NACHMAN, M. Learned taste and temperature aversions due to lithium chloride sickness after temporal delays, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 73 (1970) 22-30.
104. NACHMAN, M., RAUSCHENBERGER, J. en ASHE, J.H. Stimulation characteristics in food aversion learning. In: N.W. Milgram, L. Krames en T. Alloway (Eds.) *Food Aversion Learning*, Plenum Press, 1977, pp 105-132.
105. NEMOTO, E.M. Pathogenesis of cerebral ischemia-anoxia, *Crit. Care Med.*, 6 (1978) 203-214.
106. NICHOLAUS, L.K. en CASSEL, J.K. Taste-aversion conditioning of crows to control predation on eggs, *Science*, 220 (1983) 212-214.
107. NIELSON, H.C., ZIMMERMAN, J.M. en COLLIVER, J.C. Effect of complete arrest of cerebral circulation on learning and retention in dogs, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 56 (1963) 974-978.
108. NONNEMAN, A. Anatomical and Behavioral Consequences of Early Brain Damage in the Rabbit. Thesis study, 1970, University Microfilms International Ann Arbor, Michigan, U.S.A.
109. OLTON, D.S. en FEUSTLE, W.A. Hippocampal function required for non-spatial working memory, *Exp. Brain Res.*, 41 (1981) 380-389.
110. OSSENKOPP, K.P. Taste-aversions conditioned with gamma radiation: Attenuation by area postrema lesions in rats, *Behav. Brain Res.*, 7 (1983) 297-305.

111. QUARTERMAIN, D., McEWEN, B.S. en AZMITIA, E.C. Amnesia produced by electroconvulsive shock or cycloheximide: Conditions for recovery, *Science*, 169 (1970) 683-686.
112. REDDY, M.M. en BURES, J. Unit activity changes elicited in amygdala and neocortex of anaesthetized rats by intraperitoneal injection of LiCl., *Neurosci. Lett.*, 22 (1981) 169-172.
113. REUTER, J.H., HOBBELEN, J.F. en HOF, M.W. van The rabbit's retina as a model for studying impairment of energy release. In: A. Wauquier, M. Borgers en W.K. Amery (Eds.) *Protection of Tissues against Hypoxia*, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1982, pp 315-318.
114. REVUSKY, S.H. en BEDARF, E.W. Association of illness with prior ingestion of novel foods, *Science*, 155 (1967) 219-220.
115. RONDEAU, D.B., JOLICOEUR, F.B., MERKEL, A.D. en WAYNER, M.J. Drugs and taste aversion, *Neurosci. Lett. Biobehav. Rev.*, 5 (1981) 279-294.
116. ROZIN, P. en KALAT, J.W. Specific hungers and poison avoidance as adaptive specializations of learning, *Psychol. Rev.*, 78 (1971) 459-486.
117. RUMBAUCH, D.M. en JEEVES, M.A. A comparison of two discrimination-reversal indices intended for use with diverse groups of organisms, *Psychon. Sci.*, 6 (1966) 1-2.
118. SAFAR, P. Introduction: On the evolution of brain resuscitation, *Crit. Care Med.*, 6 (1978) 199-202.
119. SARA, S.J. en LEFEVRE, D. Hypoxia-induced amnesia in one-trial learning and pharmacological protection by piracetam, *Psychopharmacologica (Berl.)* 25 (1972) 32-40.
120. SARA, S.J. Recovery from hypoxia and ECS-induced amnesia after a single exposure to the training environment, *Physiol. Behav.*, 10 (1973) 85-89.
121. SARA, S.J. Delayed development of amnesic behavior after hypoxia, *Physiol. Behav.*, 13 (1974) 693-696.
122. SCHANE, F.A.X., KANE, A.B., YOUNG, E.E. en FARBER, J.L. Calcium dependence of toxic cell death: A final common pathway, *Science*, 206 (1979) 700-702.
123. SCHMIDT-NIELSEN, K. (Ed.) *Animal Physiology. Adaptation and Environment* Cambridge University Press, 1975, pp 27-45, 80-116, 208-221.
124. SCHNEIDER, K. en NOVIN, D. The effects of stimulation of the amygdala on food and water intake in rabbits, *Physiol. Psychol.*, 6 (1978) 61-64.
125. SIEGEL, S. Flavor preexposure and "learned safety", *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 87 (1974) 1073-1082.
126. SIESJÖ, B.K. Cell damage in the brain: A speculative synthesis, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, 1 (1981) 155-185.

127. SLOPER, J.J., JOHNSON, P. en POWELL, T.P.S. Selective degeneration of interneurons in the motor cortex of infant monkeys following controlled hypoxia: A possible cause of epilepsy, *Brain Res.*, 198 (1980) 204-209.
128. SMITH, F.J., CHARNOCK, D.J. en WESTBROOK, R.F. Odor-aversion learning in neonate rat pups: The role of the duration of exposure to an odor; *Behav. Neural Biol.*, 37 (1983) 284-301.
129. STEELE RUSSELL, I., HOF, M.W. van en PEREIRA, S.C. Orientation discrimination in split-brain rabbits, *Behav. Brain Res.*, 8 (1983) 271.
130. STUURMAN, P.M., HOF, M.W. van en HOBBELEN, J.F. Behavioural effects of early and late unilateral ablation of the occipital lobe in the rabbit, In: M.W. van Hof en G. Mohn (Eds.) *Functional Recovery of Brain Damage*, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1981, pp 121-129.
131. THOMPSON, R. en DEAN, W.A. A further study of the retrograde effect of ECS, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 48 (1955) 488-491.
132. THOMPSON, R. en PRYER, R.S. The effect of anoxia on the retention of a discrimination habit, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 49 (1956) 297-300.
133. THOMPSON, R. Stereotaxic mapping of brainstem areas critical for memory of visual discrimination habits in the rat, *Physiol. Psychol.*, 4 (1976) 1-10.
134. THOMPSON, R., ARABIE, G.J. en SISK, G.B. Localization of the "incline plane discrimination system" in the white rat, *Physiol. Psychol.*, 4 (1976) 311-324.
135. THOMPSON, R. Rapid forgetting of a spatial habit in rats with hippocampal lesions, *Science*, 212 (1981) 959-960.
136. THOMPSON, R. Brain lesions impairing visual and spatial reversal learning in rats: Components of the "general learning system" of the rodent brain, *Physiol. Psychol.*, 10 (1982) 186-198.
137. THOMPSON, R. Impaired visual and spatial reversal learning in brain-damaged rats: Additional components of the "general learning system" of the rodent brain, *Physiol. Psychol.*, 10 (1982) 293-305.
138. THOMPSON, R.F. Learning and memory. In: R.F. Thompson (Ed.) *Introduction to Physiological Psychology*, Harper & Row Publishers, 1975, pp 463-529.
139. THOMPSON, R.F. The search for the engram, *Amer. Psychologist*, 20 (1976) 209-227.
140. UNDERWOOD, B.J. Attributes of memory, *Psychol. Rev.*, 76 (1969) 559-573.
141. VACHER, J.M., KING, R.A. en MILLER, A.T. Failure of hypoxia to produce retrograde amnesia, *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 66 (1968) 179-181.
142. VELEMA, J. en ZAAGSMA, J. β -adrenerge modulatie van de hartcontractie. De rol van cAMP in het cellulaire Ca^{++} -transport, *Hart Bull.*, 13 (1982) 74-86.

143. VOS-KORTHALS, W.H. de en HOF, M.W. van Pattern discrimination after unilateral and bilateral ablation of the occipital lobe in the rabbit, *Behav. Brain Res.*, 2 (1981) 219-222.
144. WAUQUIER, A., CLINCKE, G., ASHTON, D. en REEMPTS, J. van Considerations on models and treatment of brain hypoxia. In: M.W. van Hof en G. Mohn (Eds.) *Functional Recovery from Brain Damage*, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 1981, pp 95-114.
145. WAUQUIER, A., ASHTON, D., CLINCKE, G. en REEMPTS, J. van Pharmacological protection against brain hypoxia: The efficacy of flunarizine, a calcium entry blocker. In: F. Clifford-Rose en W.K. Amery (Eds.) *Cerebral Hypoxia in the Pathogenesis of Migraine*. Progress in Neurology Series., The Pitman Press, Bath, 1982, pp 139-154.
146. WEAST, R.C. (Ed.) *Handbook of Chemistry and Physics*. 60th edition, CRC Press, Inc. U.S.A., 1979-1980, D164-D166.
147. WIED, D. de Neuropeptiden en psychopathologie. *Het Hormoon*, Vol. XLVI, no 3 en 4, *Organorama*, 19 (1982) (3) 3-9, (4) 3-7.
148. WIELOCH, T., HARRIS, R.J. en SIESJÖ, B.K. Brain metabolism and ischemia: Mechanisms of cell damage and principles of protection, *J. cereb. Blood Flow Metab.*, 2 (suppl. 1) 1982, S5-S9.
149. WIELOCH, T. en SIESJÖ, B.K. Ischemic brain injury: The importance of calcium, lipolytic activities, and free fatty acids, *Path. Biol.* (1982) 269-277.
150. WINDLE, W.F. en BECKER, R.F. Asphyxia neonatorum, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 45 (1943) 183-199.
151. WINDLE, W.F. Brain damage at birth, *JAMA*, 206 (1968) 1967-1972.
152. WINDLE, W.F. Brain damage by asphyxia at birth, *Sci. Amer.*, 221 (1969) 76-88.
153. YOUNG, G.A. Focus On: A Pharmacologic Approach to Brain Hypoxia. *Janssen Research News*. Medische Informatiedienst Janssen Pharmaceutica B.V., 1983, 1-12.
154. ZAHORIK, D.M. en HAUPT, K.A. The concept of nutritional wisdom: Applicability of laboratory learning models to large herbivores. In: L.M. Barker, M.R. Best en M. Domjan (Eds.) *Learning Mechanisms in Food Selection*. Baylor University Press, 1977, pp 45-67.

P O S T S C R I P T U M

Het voltooiën van mijn proefschrift is een passende gelegenheid om hen die voor het tot stand komen ervan van groot belang zijn geweest, te bedanken. Het noemen van enkelen heeft het nadeel dat het werk van velen hier onvermeld blijft; vergeten zijn zij echter allerminst. Het naast studie en opleiding werken aan een promotie-onderzoek was namelijk zonder de inzet van velen thuis en "op het werk" niet mogelijk geweest.

Mijn bijzondere dank gaat uit naar mijn promotor Professor Dr. M.W. van Hof. Tijdens alle stadia van mijn werk binnen de afdeling Fysiologie I speelde hij de centrale en onmisbare rol. Hij zette de lijnen uit, waarlangs het onderzoek zich heeft ontwikkeld en hij wist in een latere fase het op schrift stellen van de bevindingen in goede banen te leiden. Voor het vertrouwen dat hij steeds had in het uiteindelijke resultaat, ben ik hem zeer dankbaar.

Voor het aandachtig en kritisch doornemen van het manuscript en voor de waardevolle suggesties ben ik de beide co-referenten, Professor Dr. J.C. Molenaar en Professor Dr. J. Bruinvels zeer erkentelijk.

Een moeilijke taak was weggelegd voor Yvonne Aberson-Kap die alle handgeschreven versies van het proefschrift tot leesbare tekst wist om te werken, waarbij ze kans zag de nodige verbeteringen in de uitvoering aan te brengen. "Zeer bedankt voor alle inspanningen, Yvonne."

Ben Weijer vertaalde de vele tekeningen met grote precisie in reproduceerbare "plaatjes". Tevens was hij onmisbaar voor het op betrouwbare wijze laten functioneren van de proefopstellingen. Het Audiovisueel Centrum van de Medische Faculteit verzorgde de fotografische reproductie van de tekeningen.

Voor de uitvoering van de experimenten en de verzorging van de dieren waren Irene de Blooys en Henk Dronk onmisbaar. Ook de vorige bezetting van de trainkamer was een betrouwbare hulp in het experimentele werk. "Irene, Henk, Hans, Francis en Ben, bedankt voor de kameraadschappelijke manier waarop ik door jullie tegemoet ben getreden."

Mijn beide paranimfen, Sebo Jan Eelkman Rooda en Laus Mulder, bleken juist in de laatste roerige weken ware vrienden wier steun zeer van pas kwam. Daarnaast is hun inzet voor de meer feestelijke zijde van grote waarde geweest.

Wat verder op de achtergrond, maar niet minder belangrijk, hebben mijn ouders een zeer stimulerende rol gespeeld. Het is voor mij dan ook een groot voorrecht nu met hen te kunnen samenwerken en deze samenwerking te kunnen uitbreiden. Zij hebben mij steeds in staat gesteld de weg naar het nu bereikte doel op mijn eigen wijze te zoeken.

Tenslotte ben ik mijn partner zeer dankbaar voor de ruimte die ze mij bij de voltooiing van het proefschrift heeft gegeven. Paula, ik hoop dat je het " eerst even naar de faculteit" of het " eerst even schrijven" niet al te zeer bent gaan zien als m'n tweede natuur.

Allen die mij tijdens welke fase dan ook met goede raad hebben bijgestaan blijf ik zeer erkentelijk. Het werken op de afdeling Fysiologie I is voor mij mede daardoor zeer plezierig geweest.

Gert Jan.

CURRICULUM VITAE

Gerrit Jan Dogterom

- 1957 Geboren te Sommelsdijk
- 1969 - 1975 Rijksscholengemeenschap Goeree-Overflakkee te Middelharnis, afgerond met Atheneum-B examen.
- 1975 - 1982 Medische studie aan de Erasmus Universiteit te Rotterdam,
- 1978 Het keuze-practicum werd besteed aan onderzoek betreffende de "frontal eye-fields" bij de rat onder leiding van Professor I. Steele Russell (MRC Unit on Neural Mechanisms of Behaviour, Dept. of Anatomy and Embryology, Centre for Neurosciences, University College London).
- 1978 kandidaats-examen
- 1980 doctoraal-examen
- 1982 artsexamen, met lof
- 1978 - heden Werkzaam op de afdeling Fysiologie I van de Medische Faculteit van de Erasmus Universiteit Rotterdam (Hoofd: Prof. Dr. M.W. van Hof). Onder leiding van Prof. Dr. M.W. van Hof werd dit proefschrift bewerkt.
- 1978 - 1980 Student-assistentschap op de afdeling Fysiologie I van de Medische Faculteit van de Erasmus Universiteit Rotterdam.
- 1982 - 1983 Opleiding tot huisarts aan het Rotterdams Universitair Huisartsen Instituut (Hoofd: Prof. Dr. H.J. Dokter).
- 1983 - heden Werkzaam als huisarts te Sommelsdijk.

